J Korean Soc Food Sci Nutr
34(5), 581~585(2005)

한국식품영양과학회지

김치 유산균의 Caco-2 세포막 부착성 및 Aflatoxin B_1 제거 효과

이 정 민

남부대학교 식품생명과학과

Adhesion of Kimchi Lactobacillus Strains to Caco-2 Cell Membrane and Sequestration of Aflatoxin B_1

Jeongmin Lee

Dept. of Food and Life Sciences, Nambu University, Gwangju 506-706, Korea

Abstract

Five lactic acid bacteria (LAB) including 2 Lactobacillus strains isolated from Kimchi were evaluated to determine the binding ability to Caco-2 cells and AFB_1. LAB were divided into three different groups; viable, heat-treated, and acid-treated cells. In the radioactive-labeling assay for bound cell counting, viable *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099 showed the higher adhesion to Caco-2 cells with the binding capacity of 39.2%, which was 149% higher than *Lactobacillus rhamnosus* GG as a positive control. *Leuconostoc mesenteroids* KCTC 3100 showed the similar binding ability to *L. rhamnosus* GG. After 1 hour incubation at 37°C with AFB_1, viable *L. plantarum* KTCC 3099 removed the toxin by 49.8%, which was similar level to *L. rhamnosus* GG. Both heat- and acid-treated groups showed high binding effect but acid-treated group was more effective for both Caco-2 cell binding and AFB_1 removal than the other. These results indicate that components of bacterial cell wall might be involved in the binding to intestinal cells and toxins.

Key words: lactic acid bacteria, Caco-2 cells, aflatoxin B_1, cell wall, Kimchi

서 론

현재 연구되고 있는 프로바이오틱(probiotic) 미생물의 많은 부분이 유산균(lactic acid bacteria)을 포함하고 있으며 사람의 위장관계 미생물 균총과 기능에 여러가지 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다. 유산균이 프로바이오틱으로서 역할을 하기 위해서는 장점막세포에 정상적으로 부착되어 균총(colonization)을 형성할 수 있어야 한다(1). 지난 수년간 *Lactobacillus* LA1, *Lactobacillus* GG 그리고 *Lactobacillus casei* Shirota 등의 유산균이 항산화성 및 장내세포 부착성이 높은 것으로 보고되어져 왔다. 하지만 *in vitro*계에서 보고된 바와 같이 장내세포에의 부착성은 유산균의 수와 실험과정 중 PBS로 세척하는 횟수에 따라 많은 차이를 보임으로 유산균의 부착능력은 일시적이고 부분적일 수 있음을 알 수 있다(2). 최근에 알려진 바는 유산균 세포벽의 다당체 성분이 장내세포와의 결합에서 주된 역할을 하되 물리적인 포획에 가까울 것으로 보고했다(3). 즉 장내세포에의 부착성은 유산균의 생존여부보다는 세포벽의 성분에 의해 보다 영향을 받는다는 것을 알 수 있다.

유산균의 장내세포 부착성에 대한 연구와 더불어 식품의 중요한 오염원인 aflatoxin B_1(AFB_1) 같은 독성물질에 대한 부착성 또한 프로바이오틱으로서의 유용성을 증가시킴이 제시되어졌다(4). AFB_1은 사람과 동물의 DNA에 공유결합을 형성하여 돌연변이와 암전이를 유도하는 것으로 알려진 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus* 두종류의 곰팡이에 의해 생성된 미생물 독소이다. 따라서 AFB_1의 제거는 오염된 곡물이나 유가공품의 폐기로 인한 경제적 손실을 방지할 수 있음으로 산업적으로 중요하게 여겨지고 있다. 최근에 Lactobacillus 속의 유산균이 장점막세포 부착성이 뛰어남과 동시에 AFB_1의 제거에도 유용한 것이 알려졌다. 따라서 김치로부터 장내세포 부착성이 높음과 동시에 식품근원의 독성물질을 제거할 수 있는 유산균을 발굴하는 것은 김치의 기능성과 산업화 증대에 기여할 수 있으리라 사료된다.

김치의 기능성에 대한 연구는 국내에서 꾸준히 이루어지고 있다. 특히 그 구성성분이 되는 재료의 기능성 뿐만 아니라 발효 전후로 생성, 소멸되는 성분의 변화에 대해서도 그 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 김치 유산균은 크게 *Lactobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*가 발효과정에 중요한 역할을 담당하고 있다(5). 또한 김치 유산균의 세포벽 성분인 펩티도글리칸(peptidoglycan)과 뮤라밀산(muramyl acid)의 유도체는 항돌연변이 및 면역상승작용이 있음이 알려졌다(6). 하지만 프로바이오틱스로서의 김

E-mail: az121899@empal.com
Phone: 82-62-970-0171, Fax: 82-62-970-0039

치 유산균에 대한 장점막세포 부착성에 대한 연구는 아직 미비하게 수행되고 있다. 따라서 본 연구에서는 *L. plantarum* KCTC 3099와 *L. mesenteroides* KCTC 3100의 장점막 세포에 대한 부착성을 확인하기 위하여 Caco-2 결장암세포를 이용하였으며 또한 유산균의 생존 여부와 세포벽의 구조적 변화가 부착성에 영향을 미치는 지를 확인하기 위하여 유산균을 열처리하거나 강산에 처리한 후 균체의 부착성을 비교 실험하였다. 그리고 식품산업화의 보다 폭넓은 응용 가능성을 검토하기 위해 김치유산균의 AFB_1에 대한 흡착능을 생균, 열처리 및 강산 처리한 후 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

유산균종, 배양 및 계수

2종의 김치유산균을 포함하여 모두 5종의 유산균을 한국균주은행(Korean Type Culture Collection, KTCC)에서 구입하였으며 균주는 다음과 같다; *Lactobacillus rhamnosus* GG (양성대조군), *L. casei* 01, *L. casei* KCTC 3109, *L. plantarum* KCTC 3099, *L. mesenteroides* KCTC 3100. 모든 균주는 deMan-Rogosa-Sharpe(MRS)배지(Oxoid, Hampshire, United Kingdom)에서 호기적 조건(37°C, 10% CO_2)으로 16~24시간 배양하였다. 박테리아 계수는 공냉식 488-nm argon-ion laser(15 mV)를 장착한 FACS Calibur flow cytometry를 이용하여 결정하였다. 내부교정(internal calibration)을 위해서 Fluoresbrite beads(2.0 μm, Polysciences Inc.)를 사용하였으며 박테리아 생존률은 1 M/10^6~10^7 bacteria 농도의 SYTOX green nucleic acid stain(Molecular Probes, S-7020)을 사용하여 측정하였다. 이때 green SYTOX 파장을 확인하기 위해 525 nm의 필터를 부착하였다. 균수 확인을 위한 보다 정확한 비교로서 MRS 평판배지에 10배씩 연속 희석한 유산균을 도말하여 CFU를 측정하였다. 장내세포 부착성과 AFB_1 흡착성 실험을 위해서 2×10^9 CFU/mL의 유산균을 사용하였으며 이에 해당되는 OD_{600} 값을 기록하여 방사선 동위원소의 사용으로 인한 측정기기의 오염을 방지하기 위해 차후에 균수를 확인하는데 사용하였다.

Caco-2 결장암 세포 배양

Caco-2 결장암 세포(ATCC HTB37)는 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하였다. 세포는 20% heat-inactivated(55°C, 30 min) fetal bovine serum(FBS, Whitaker, USA), 2 mM L-glutamine (Sigma, USA), 100 U/mL penicillin and 100 mg/mL streptomycin(BioWhitaker, USA)를 첨가한 MEM(minimum essential medium)으로 5% CO_2 배양기에서 37°C 항온하여 배양하였다. Caco-2 세포에 대한 부착성 실험은 24-well tissue culture plates에 5×10^5 세포/well을 초기 접종하여 세포간의 접촉이 있을 때까지 배양한 후 2주간 분화(differentiation)시켜 사용하였다. 배지는 매일 신선한 것으로 교체시켜 배양하였고 부착성 실험 한시간 전에 FBS를 첨가하지 않은 MEM 배지로 교체한 후 실험하였다.

In vitro 부착성 실험

방사선동위원소로 표지된 유산균을 얻기 위해 5 μL/mL of methyl-1,2,-[^{3}H]-thymidine(6.7 Ci mmol/mL, BMS, USA)을 대수기에 있는 유산균 전배양액으로부터 재접종된 5 mL의 배양액에 첨가하여 37°C에서 4시간 200 rpm으로 진탕 배양하였다. 균체를 2,500×g에서 20분간 원심 분리하여 수집한 후 생균군, 열처리군(PBS에서 1시간 가열), 강산처리군(2 M HCl에서 1시간 처리)으로 나누어 각각의 조건에 따라 처리한 후 최종수집하여 PBS로 3회 세척하였다. Caco-2 세포 부착성 실험은 생균, 열처리, 강산 처리된 3그룹의 방사선 동위원소로 표지된 유산균 50 μL 현탁액(2×10^9 CFU)을 세포에 처리하여 37°C에서 1.5시간 배양하였다. 1 mL의 PBS로 3번 세척한 후 1% SDS와 0.9 M NaOH로 구성된 용액 500 μL를 처리한 후 37°C에서 1시간 배양하여 세포질을 용출시켰다. 세포질 용출액을 5 mL의 scintillation 용액에 혼합하여 Beckman LS 6500 scientillation counter에서 방사능 수치(cpm)을 측정하였다.

Radioactivity Ratio (%)=
(세포질용출액의 cpm/최초 50 μL 유산균현탁액의 cpm)×100

유산균의 Caco-2 세포에 부착한 형태를 관찰하기 위해 그람염색을 수행하였다. 먼저 위에서 제시된 방법에 따라 유산균 현탁액을 만들어 분화된 Caco-2 세포에 1시간 동안 처리하여 PBS로 3번 세척하였다. PBS에 녹인 3%(w/v) paraformaldehyde를 30분간 처리하여 상온에서 고정시킨 후 PBS로 3번 세척하였고 공기 중에서 건조시켜 그람 염색을 수행하여 15곳을 무작위로 선택하여 현미경상에서 관찰하였다.

유산균에 AFB_1 처리방법

AFB_1(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 benzene-acetonitrile(97:3) 유기용매에 녹인 후 80°C에서 10분간 항온조에서 유기용매를 증발시켜 5 ng AFB_1/mL의 농도로 PBS에 녹였다. 유산균배양액을 2,500×g에서 15분간 원심 분리한 후 침전된 균체를 AFB_1을 포함하는 1.5 mL PBS에 재현탁시켜 37°C에서 1시간 배양하였다. 다시 2,500×g에서 20분간 원심분리하여 균체를 제거한 후 상층액에 남아있는 AFB_1의 함량을 HPLC로 측정하였다.

HPLC에 의한 AFB_1의 함량 측정

HPLC를 통한 AFB_1 측정과정은 이전의 연구에서 수행된 바 있는 것을 본 실험에 적합하도록 변형하였다(7). 상층액으로부터 AFB_1의 추출없이 직접 70 μL 상층액을 HPLC에 주입하였다. 사용한 HPLC system(Waters, USA)은 dual pump model 400 solvent delivery sytstem, model 980 pro-

grammed fluorescence detector, 그리고 C_{18} guard column을 장착한 220×4.6 mm 크기의 5 μm ODS Spheri-5 Brownlee column로 구성하였다. Water-acetonitrile-methanol(60 : 30 : 10 by vol)을 mobile phase로 사용하였고 flow rate는 1 mL/min로 하였고 파장은 365 nm에서 excitation 그리고 418 nm에서 emission 되도록 고정하였다. Retention time은 대략 9.5분이었고 chromatograms의 기록속도는 0.3 cm/min이었고 peak width는 약 0.4분이었다.

Amount of free AFB_1 (%)=
(상층액의 AFB_1 peak area/대조군 AFB_1 peak area)×100

통계처리

유산균의 Caco-2 세포부착성과 AFB_1 흡착력에 관한 실험에서 얻어진 자료로부터 Student's *t*-test를 이용하여 통계분석하였고 5% 이내에서 통계적 유의성을 부여하였다.

결과 및 고찰

유산균의 Caco-2 세포 부착능

실험에 사용된 5가지 유산균의 Caco-2 세포에 대한 부착능은 Table 1과 같다. 유산균의 Caco-2 세포에 대한 부착능은 유산균의 종에 따라 다양하게 나타나고 있지만 유산균의 처리방법에 따라서는 큰 차이를 나타내지 않았다. *L. rhamnosus* GG의 경우 장내 세포에 대한 부착능이 뛰어난 것으로 알려져 있어 본 실험에서 양성 대조군으로 사용하였다. 김치 유산균인 *L. plantarum* KCTC 3099와 *L. mesenteroides* KCTC 3001 모두 높은 장내세포 부착능을 보였으나 *L. plantarum* KCTC 3099가 보다 효과적으로 나타났고 양성 대조군에 비해 보다 높은 장내세포 부착능을 나타내었으나 *L. mesenteroides* KCTC 3001은 양성 대조군에 비해 다소 낮은 부착능을 나타내었다. 나머지 *L. casei* 01과 *L. casei* 3109의 경우는 양성 대조군에 비해 매우 낮은 부착능을 나타내었다. 유산균 처리방법에 따라서도 다소 차이를 나타내었는데 생균(viable cell)보다는 열처리군과 강산 처리군에서 부착능이 증가하는 경향을 확인하였으나 강산 처리군을 제외하면 통계적 유의성은 낮게 나타났다. *L. rhamnosus* GG의 부착능이 14.4%를 나타낸 Tuomola의 연구와 비교해 보면 장내세포 부착능이 본 실험에서 높게 나타나고 있다(2). 이것은 실험과정에서 균세척 횟수와 초기 접종수에 관련이 있는 것으로 여겨지며 유산균과 장점막세포와의 결합력이 그렇게 강하지 못해 세척횟수 또는 접종 균수에 의해 영향을 받는다는 Tuomola의 연구결과를 뒷받침하는 것으로 생각된다. 유산균의 세포부착성에 관여하는 인자는 물리적 포획, 정전기적 인력, 소수성결합, 수용체의 발현(adhesion molecules), lipoteichoic acids 같은 구조적인 특성 등을 들 수 있다(8). 하지만 이러한 성질은 유산균의 종에 따라 차이점이 다양하게 나타나고 있다. 예를 들어 *L. fermentum* 104R의 경우 표면에 부착성을 증대시키는 29 kDa의 단백질이 발현되는 반면 *L. johnsonii* La1는 lipoteichoic acid가 주요한 물질로 밝혀졌다(9,10). 본 실험에서는 유산균의 생존여부와 세포벽의 구조적 변화가 부착성에 미치는 영향을 평가하기 위해 열과 강산에 처리하였으나 열처리군의 경우 큰 유의성을 발견하지는 못하였다. 하지만 강산처리군의 경우 부착능이 증가한 것은 강산에 의해 세포벽의 peptidoglycan 구조가 파괴되면서 재정렬된 세포벽의 구조 및 성질에 의한 결과로 추측된다. 유산균의 부착능 실험에서 고려되어야 할 것은 유산균의 군집 형상에 관한 것이다. 유산균은 그 종에 따라 군집을 형성하는 것이 차이가 있으며 부착능 실험에서 방사선 동위원소를 표지자로 사용할 경우 영향을 미칠 수 있다. Tuomola의 보고에는 *L. casei*(Fyos®)의 경우 유산균 개체간의 결합으로 chain형상의 군집을 이루고 있고 PBS 세척에도 각 개체로 떨어지지 않고 그대로 남아있어 방사선 동위원소 측정 시 정확한 자료를 제공하지 못하도록 하고 있다(2). 따라서 방사선 동위원소를 이용한 유산균의 장점막세포 부착능 실험에는 필수적으로 Gram-staining을 통한 현미경적 관찰이 필요하리라 여겨진다. 본 실험에서도 유산균의 부착 후 Gram-staining 하여 현미경을 관찰한 결과를 Fig. 1에서 나타내었는데 chain 형상의 유산균은 없었으며 모두 개체별로 관찰되었고 대개 2~3개의 유산균이 서로 결합된 채 관찰되었다.

유산균의 AFB_1 흡착능

Aflatoxins은 Aspergillus 속의 곰팡이에서 생성되는 미

Table 1. Effect of pre-treated lactic acid bacteria on their ability to bind Caco-2 cells

Strain	% Lactic acid bacteria bound to Caco-2 cell±SD[1)]		
	Viable	Heat-treated	Acid-treated
L. rhamnosus GG	26.4±1.75	28.1±2.27	31.7±1.64#
L. plantarum KCTC 3099	39.2±2.42	36.4±4.22	43.2±1.87#
L. mesenteroides KCTC 3001	15.8±0.97	17.6±1.31*	19.1±2.36#
L. casei 01	10.2±0.67	14.4±0.89*	17.5±1.21#
L. casei 3109	17.3±3.30	15.3±1.75	20.4±2.34#

[1)]Initial binding was achieved by incubating bacteria with number of 2×10^9 CFU in MEM for 1.5 hour at 37°C. Results are the mean±SD for triplicate samples.
*$p<0.05$ in comparison with viable cell group.
#$p<0.05$ in comparison with heat-treated group.

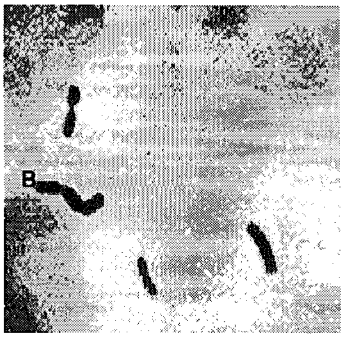

Fig. 1. Adhesion of lactobacillus strains to Caco-2 cell cultures observed using light microscopy after Gram-staining (magnification, ×1000).
A: *L. plantarum* KCTC 3099, B: *L. casei* 01.

Table 2 Effect of pre-treated lactic acid bacteria on their ability to bind AFB_1

Strain	AFB_1 % bound±SD[1)]		
	Viable	Heat-treated	Acid-treated
L. rhamnosus GG	54.1±2.15	62.7±3.17*	71.9±5.14#
L. plantarum KCTC 3099	49.8±3.25	56.4±2.19*	64.3±3.43#
L. mesenteroides KCTC 3100	7.91±0.71	9.17±2.32	14.1±2.11#
L. casei 01	5.83±1.43	8.31±1.73*	17.3±1.97#
L. casei 3109	8.31±2.11	10.4±2.17	14.3±3.14#

1)Initial binding was achieved by incubating bacteria with 5 ng/mL AFB_1 in PBS for 1 hour at 37℃. Results are the average±SD for triplicate samples.
*$p<0.05$ in comparison with viable cell group.
#$p<0.05$ in comparison with heat-treated group.

생물독소로서 사람과 동물 모두에게 돌연변이 및 발암에 관여하여 치명적인 해를 끼칠 수 있다. 따라서 이전의 연구에서 프로바이오틱 미생물이 식품의 오염원으로 작용하는 aflatoxins(AFB_1)의 제거에 이용되는 것은 대체로 독소의 흡착에 의한 제거나 독소를 세포내에서 대사하여 보다 독성이 약한 물질로 전환시킬 수 있는 방안을 개발하고자 하는 목적으로 시도되었다. 유산균의 AFB_1에 대한 흡착능은 유산균의 종에 따라 다양하게 나타나고 있음을 알 수 있으며 또한 유산균의 처리방법에 따라서도 차이를 나타내었다. AFB_1에 대한 유산균의 흡착력은 유의성을 지니기 위해 균수를 최소 2×10^9으로 하여야 한다는 El-Nezami 등(7)의 보고에 따라 동일한 균수를 본 실험에서는 사용하였다. Table 2에서 나타낸 바와 같이 *L. plantarum* KCTC 3099의 AFB_1 흡착력은 양성 대조군인 *L. rhamnosus* GG와 거의 같은 수준을 보이고 있는 반면 *L. mesenteroides* KCTC 3001는 매우 낮은 흡착능을 나타내었다. *L. casei* 01과 *L. casei* 3109의 경우도 마찬가지로 AFB_1에 대한 흡착력을 거의 나타내지 않았다. 유산균의 처리방법에 따라서도 유의성 있는 차이를 보이고 있다. 특히 열처리균의 경우 AFB_1이 유산균 세포질 내로 유입되어 대사될 수 있는 가능성을 배제시켰음으로 상층액에서 AFB_1 함량의 감소는 유산균 세포벽과의 결합에 의한 것으로 추측할 수 있다. 따라서 본 실험에서 생균군보다 열처리군의 흡착력이 높은 것은 AFB_1의 세포질 대사를 중단시켰기 때문이거나 열처리로 인한 표면 수용체 물질들의 구조적 변형이 AFB_1이 결합하기에 적합한 방향으로 진행되었을 가능성도 있을 것으로 사료된다. 강산처리군의 경우는 보다 높은 AFB_1 흡착능을 나타내었는데 이것은 세포벽의 구조적 변화에 기인한 것으로 사료된다. 유산균의 세포벽의 성분 중 peptidoglycans과 polysaccharides가 중요한 두 구성요소로 알려져 있다. 특히 순수한 peptidoglycan 구조보다는 아미노산 pyrolyzates와 결합할 수 있는 부위(binding site)를 가진 세포벽일 경우 AFB_1의 흡착에 보다 효과적인 것으로 여겨진다(11).

요 약

김치의 발효와 숙성에 관여하는 2종의 유산균과 3종의 유제품으로부터 분리된 유산균을 Caco-2 세포 부착성과 AFB_1 흡착능에 대해 비교 검토하여 보았다. 또한 유산균을 생균군, 열처리군, 강산처리군으로 나누어 유산균의 부착성 및 흡착력이 세포벽의 구조와 관련이 있다는 보고를 재확인하고자 하였다. *L. plantarum* KCTC 3099의 경우 Caco-2 세포 부착성이나 AFB_1 흡착능이 높게 나타났으며 이것은 양성 대조군으로 사용된 *L. rhamnosus* GG와 유사한 수준을 나타내었다. 하지만 *L. mesenteroides* KCTC 3001은 Caco-2 부착성은 다소 높게 나타났으나 AFB_1 흡착능은 낮게 나타났다. 이것은 Caco-2 세포에 결합하는 부위와 AFB_1에 결합하는 부위가 일치하지는 않는다는 것을 암시하는 것으로 사료된

다. 또한 유산균의 처리방법에 따라서도 다양한 차이를 보였는데 본 실험에서는 강산처리군의 경우 보다 효과적인 것으로 나타났으며 세포벽의 주된 구조인 peptidoglycan과 polysaccharides이 강산의 처리에 의해 결합이 파괴되면서 Caco-2 세포 부착성이나 AFB_1 흡착능의 상승에 영향을 미쳤으리라 여겨진다. 하지만 강산처리에 의한 세포벽의 변화는 비특이적으로 발생하기 때문에 동일한 형태로 모든 유산균에 적용되기는 어려울 것이며 각 유산균종의 세포벽 구조와 특이 성분의 함량에 따라 다양하게 변화가 일어날 것으로 사료된다.

문 헌

1. Ouwehand AC, Kirjavainen PV, Shortt C, Salminen S. 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. *Intern Dairy J* 9: 43-52.
2. Tuomola EM, Salminen S. 1998. Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *Intern J Food Microbio* 41: 45-51.
3. Rinkinen M, Westermarck E, Salminen S, Ouwehand A. 2003. Absence of host specificity for *in vitro* adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus. *Veterin Microbio* 97: 55-61.
4. El-Nezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. 1998. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B_1. *Food Chem Toxicol* 36: 321-326.
5. Park KY, Cheigh HS. 2004. *Handbook of food and beverage fermentation technology*. Marcel Dekker, New York. p 621-655.
6. Park KY. 1995. The nutritional evaluation, and antimutagenic and anticancer effects of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 169-182.
7. El-Nezami H, Mykkanen H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. 2000. Ability of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* strains to remove aflatoxin B_1 from the chicken duodenum. *J Food Prot* 63: 549-552.
8. Coconnier MH, Klaenhammer TR, Kerneis S. 1992. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture. *Appl Environ Microbiol* 58: 2034-2039.
9. Rojas M, Ascencio F, Conway PL. 2002. Purification and characterization of a surface protein from *Lactobacillus fermentum* 104R that binds to porcine small intestinal mucus and gastric mucin. *Appl Environ Microbiol* 68: 2330-2336.
10. Granato D, Perotti F, Masserey I. 1999. Cell surface-associated lipoteichoic acid acts as an adhesion factor for attachment of *Lactobacillus johnsonii* La1 to human enterocyte-like Caco-2 cells. *Appl Environ Microbiol* 65: 1071-1077.
11. Sreekumar O, Hosono A. 1998. The heterocyclic amino binding receptors of *Lactobacillus gasseri* cells. *Mutat Res* 421: 65-72.

(2005년 2월 26일 접수; 2005년 4월 14일 채택)