

난황 항체를 이용한 탄수화물의 체내 소화흡수 저해

홍성길 · 김대원 · 김정원* · 이홍석
(주)바이오랩 기술연구소, *한국보건산업진흥원

Inhibition of carbohydrate digestion using egg yolk antibody

Seong-Gil Hong, Dae-Weon Kim, Jeong-Weon Kim*, Hong-Seok Lee
BioLab Research Center, Moonjung-Dong #68-12, Songpa-Gu, Seoul

*Korea Health Industry Development Institute, 57-1, Noryangjin-Dong, Dongjak-Gu, Seoul

Abstract

The dietary carbohydrates are mainly digested and adsorbed at small intestine. We developed a new food additive as an egg yolk antibody(IgY) against maltase, sucrase and sodium dependent glucose cotransporter(SGLT) for the regulation of blood glucose level and weight control. The maltase, sucrase and SGLT were purified from porcine small intestine which is very similar to that of human in physiological characteristics. The purification step contained an ultracentrifugation, ion exchange chromatography and hydrophobic chromatography. The hens were immunized by purified protein and the IgY activities against immunized antigens were determined. This antibody obtained from the immunized hen's egg yolks directly inhibited the activities of maltase and sucrase *in vitro*. And the IgY delayed and decreased the increment of blood glucose level after administration of maltose, sucrose and glucose in rat about 30 to 60%. The results of this study suggest that the IgY inhibiting the carbohydrate digestion could be used as functional food materials for weight control and regulation of blood glucose level in diabetes.

Key words: carbohydrate, IgY, maltase, sucrase, SGLT, functional food, egg yolk

1. 서 론

섭취한 음식물의 소화는 구강 내에서 탄수화물의 초기 분해를 비롯하여 위장에서 일부 단백질의 분해가 일어나며 본격적인 탄수화물 및 지방의 소화, 흡수는 십이지장에서부터 회장부에 이르는 부위에서 주로 일어나고 대장에서는 주로 수분과 염류 등의 재흡수와 유리지방산의 흡수가 일어난다. 소장에서의 소화흡수는 회장에서 분비되는 trypsinogen, chymotrypsinogen, carboxypeptidase 등의 단백질 분해 효소, pancreatic lipase 등의 지질 분해 효소, pancreatic amylase, amylopsin, maltase 등의 탄수화물 분해 효소 및 소장액에 존재하는 peptidase, nucleic acid hydrolase, arginase, phosphatase, 각종 당질 분해

효소인 lactase 등의 여러 가지 소화 효소에 의해서 식피가 분해되고 소장 표면에 있는 융털세포에서 분해된 저분자 물질들이 흡수된다.

융털세포에서 탄수화물 흡수에 가장 중요한 역할을 하는 것은 소장 융털세포의 표면에 존재하는 막 수송체(membrane vesicle)인 BBMV(brush border membrane vesicle)이다. 막수송체에는 탄수화물의 분해에 의해서 생긴 단당류 중 가장 대표적인 단당류의 체내 능동 수송에 매우 중요한 역할을 담당하는 SGLT1(sodium dependent glucose cotransporter⁽¹⁾)과 단당류의 수송에 필수 불가결한 중요한 이당류 분해 효소인 sucrase와 maltase 및 glucoamylase등이 함유되어있다^(2,3,4)(Fig. 1). 따라서 인체에 공급된 탄수화물의 소화흡수를 지연 및 저하시킬 수 있는 방법으로는 이러한 소장내 효소 및 수송체의 활성을 저해하는 것이 하나의 방법이라 할 수 있겠다.

효소 및 단백질의 활성을 저해 가능한 물질은 대부분 그 효소의 기질의 유사한 구조를 가진 화합물

Corresponding author : Hong-Seok Lee, BioLab Research Center, #68-12, Moonjung-Dong, Songpa-Gu, Seoul, Korea
Tel : 02-448-0965
Fax : 02-448-0965
E-mail : probiolab@hanmail.net

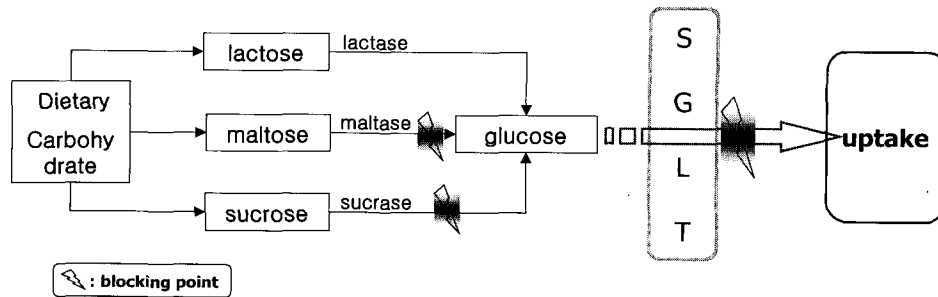


Fig. 1. Dietary carbohydrates digestion and inhibition mechanism of IgY on carbohydrates uptake

인데 의약품으로 비만 및 당뇨 치료제로 이용되고 있는 제니칼과 아카보스의 구조는 이들이 작용하는 lipase와 amylase의 기질과 유사한 구조를 지닌다. 그러나 이러한 저분자 저해제는 의약품으로 안정성이나 부작용 등의 문제가 발생할 수 있으며 달걀의 난황에 존재하는 항체를 이용한 식품으로서 안전하게 복용이 가능한 효소저해제가 현재 필요한 실정이다.

암탉의 혈액내 면역글로블린인 IgG는 달걀에도 생성되는데, 이와 같이 난황에 생긴 면역글로블린을 난황항체(IgY, egg yolk IgG)라고 한다^(5,6). 이러한 원리를 이용하여 수동면역의 개념으로서 항원에 특이적인 항체를 대량으로 생산, 이를 이용하는 기술이 많이 연구되고 있다. 달걀은 평균적으로 3~25 mg IgY/ml를 함유하며 1개의 달걀은 중량에 따라 40~500 mg의 IgY를 포함한다. 난황항체는 닭 이외에도, 기타 가금류인 칠면조, 오리, 거위 등을 이용하여도 생산할 수 있다⁽⁷⁾.

난황항체의 장점은 대량으로 생산되는 달걀을 이용하여 항체를 대량 생산 시에 경제성이 뛰어나며 난황항체가 포유류 보체, Fc receptor, protein A 또는 protein G와 반응하지 않아 면역반응을 일으키지 않는다는 것이다. 또한 산 및 열에 대해 큰 내성을 나타내며 장관 내에서도 여러 단백질 분해효소에 잘 분해되지 않는다는 것이다. FDA(Food and Drug Administration, USA)는 난황항체를 약물이라기보다는 식품으로 간주하여 GRAS (generally recognized as safe) 상태로 승인하였으며, AIDS(acquired immune deficiency syndrome) 또는 기타 질병에 걸린 인간에게 사용할 수 있도록 FDA가 승인하여 그 안전성도 높은 물질이다.

이와 같이 난황항체를 이용하여 항원에 특이적인 항체를 대량으로 생산, 이를 이용하는 기술로는 미국의 CalaGen사와 Immucell사에 의해 개발된 초유

에서 분리한 항체로 이를 이용하여 장내 감염 미생물에 의한 질환 치료제가 개발되어 임상 중에 있다. 현재 국내에서도 위장병의 원인균인 *Helicobacter pylori*를 비롯하여 *E. coli*, *Salmonella*, 충치의 주 원인균인 *S. mutans* 등에 대한 egg yolk antibody를 이용하여 식품 첨가제 및 사료 첨가제 등으로 이용되고 있다.

이에 본 연구에서는 탄수화물의 소화 흡수에서 중요한 역할을 하는 효소인 sucrase, maltase와 당당류의 체내 수송에 관여하는 SGLT를 돼지 소장으로부터 분리 정제하여 이를 항원으로 닭에 면역 접종한 후 생산된 달걀로부터 이에 대한 egg yolk antibody를 생산하는 방법을 개발하고 생산된 egg yolk antibody가 생체 내 탄수화물의 소화 흡수를 직접적으로 억제하여 비만 및 당뇨 질환의 개선 및 치료 보조용 기능성 식품으로 사용할 수 있는지를 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 효소 및 단백질의 분리 정제

탄수화물 흡수를 억제할 수 있는 항체 제조를 위한 항원 단백질을 Fig. 2의 방법에 따라 분리 정제하였다. 우선 도살 후 4시간 이내의 돼지의 소장을 PBS(phosphate buffered saline)으로 세척하고 slide glass 등을 이용하여 점막조직을 긁어내었다. 회수된 점막조직을 20 mM mannitol을 포함하는 20 mM Tris-HCl buffer(pH 6.0)에 1 : 10의 비율로 혼합하여 균질화 하고 여기에 다시 50 mM의 염화칼슘을 첨가하여 30분간 방치한 후, 원심 분리하여 상층액을 회수하였다. 회수된 상층액을 35,000×g로 40분간 고속원심분리하여 침전된 막단백질을 분리하였다⁽¹⁾.

분리된 막단백질을 50 mM Tris-HCl 완충액(pH 8)

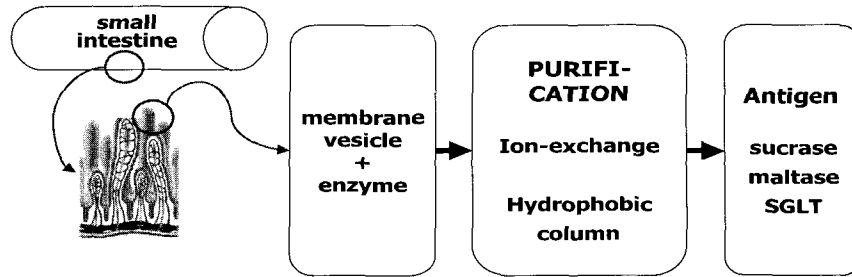


Fig. 2. Procedure of antigen preparation

으로 평형화시킨 DEAE-Sepharose 컬럼에 단백질을 결합시키고 0-1.0 M 염화나트륨의 농도구배를 가지는 동일 완충액으로 선택적으로 단백질을 분획하였다^(8,9,10,11). 분획된 단백질은 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 포함하는 50 mM Tris-HCl 완충액(pH 8)으로 평형화시킨 phenyl-Sepharose 컬럼에 흡착시킨 후 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 농도구배 용출을 통하여 sucrase, maltase 및 SGLT를 분리 정제하였다^(5,6,7). 분리된 효소의 활성을 조사하기 위하여 기질로 sucrose와 maltose를 각각 첨가하여 효소 반응을 수행하였다. 반응액은 기질 1%, 50 mM PBS, 효소(0.2 munit), 증류수를 포함하며 반응 용량은 0.1 mL로 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 100°C에서 효소활성을 정지시켰으며 생성된 포도당 농도는 포도당 산화효소를 이용한 GOD-POD 비색방법인 GLzyme kit(신양화학약품사)를 이용하여 정량하였다. SGLT의 측정에는 분획된 단백질을 SGLT 항체를 이용한 면역활성측정법(ELISA)으로 검출하였다.

2. 산란계의 면역화

분리·정제된 sucrase, maltase 및 SGLT를 항원으로 이용하여 Boas brown 종 산란계 20마리의 다리 근육에 50-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 면역 보조제인 FCA (Fruend's complete adjuvant)와 함께 2주 간격으로 3회 접종 후 마지막 4회는 항원만으로 boosting을 실시하였다. 달걀은 매일 수집한 후 4°C에서 보관하고, 면역 접종된 산란계에서 접종된 항원에 대한 항체의 형성 여부를 확인하기 위하여 면역 접종 횟수 별로 혈액을 채혈한 후 혈청을 분리하고 ELISA를 수행하였다.

3. 항체 생성확인

ELISA를 위한 항원으로 상기에서 분리한 sucrase, maltase 및 SGLT를 96 well plate에 1~100 μg 을 분주하여 하룻밤 방치한 다음, 비특이적 항체의 결합

을 방지하기 위하여 5% 탈지유를 처리하였다. 상기 wells를 buffer로 3회 세척하고, 닭에서 채혈한 항혈청을 3,000배 희석하여 37°C에서 30 내지 60분간 1차 항체로 반응시킨 후, 결합하지 않은 항체를 0.02% Tween 20이 함유된 PBS(PBST)로 3회 세척하였다. 여기에 다시 alkaline phosphatase가 결합된 anti-chicken IgG를 1,000배 희석하여 2차 항체로서 실온에서 60분간 결합시켰다. 반응이 종결된 후 PBST로 5회 세척하고 alkaline phosphatase의 기질인 PNPP(p-nitrophenyl phosphate in diethanolamine buffer) 1 mg/ml을 첨가하여 40분간 반응시킨 후 405 nm에서 microplate reader로 각 well의 흡광도를 측정하였다.

4. 난황항체의 분리

상기에서 sucrase, maltase, SGLT 항원 단백질에 대한 항체의 형성이 확인된 산란계로부터 회수한 달걀의 난황을 분리한 후 증류수와 1:1의 부피로 혼합하였다. 여기에 1 mg/ml 농도의 λ -carrageenan 용액을 4배의 부피로 첨가한 후 실온에서 30분간 방치하였다. 침전된 지질층을 제거한 후 상층액을 미세여과하여 입자를 제거하고 분자량 100,000의 한외여과를 이용하여 농축하였다. 농축한 시료를 동결건조하여 난황항체를 분리하였다(Fig. 3).

5. 항체를 이용한 효소저해

상술한 바와 같이 제조된 난황항체가 생체 내 탄수화물의 흡수 억제 활성을 나타내는지 여부를 SD 랫트를 이용하여 조사하였다. 체중 400 g의 10 주령 SD rat(대한실험동물)를 각 군당 10마리씩 4군으로 분리하여 12시간 동안 절식시킨 후, 대조군에는 생리식염수만 투여하였고, 실험군에는 난황항체를 체중 1 kg당 5 mg으로 투여하였다. 투여 시 난황항체를 PBS에 분산시킨 주사액을 존대를 이용하여 경구 투여 하였다. 난황항체 투여 후 10분 경과한 뒤,

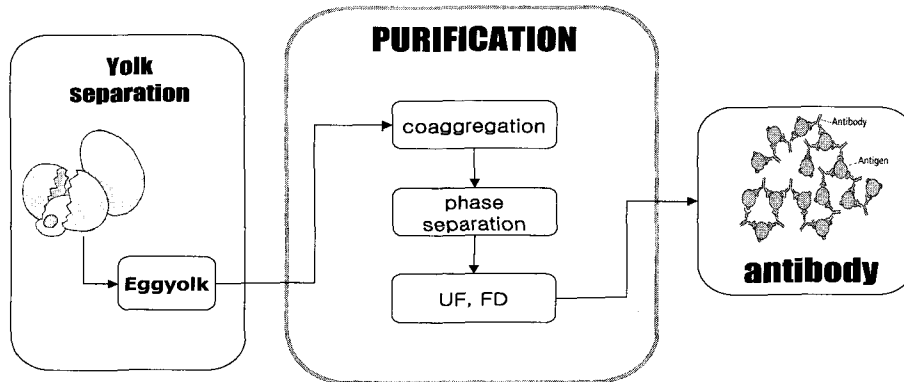


Fig. 3. Procedure of IgY purification

200 mg/kg의 sucrose 및 sucrose를 각각 경구 투여하였고 시간별로 혈액을 채취하여 혈당변화량을 측정하였다. 혈액 내 glucose 농도는 glucose oxidase를 이용한 GOD-POD 비색방법인 GLzyme kit(신양화학약품)를 이용하여 정량 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Sucrase, maltase, SGLT의 정제

막단백질에서 이온교환 및 소수성 크로마토그래피를 이용하여 정제한 sucrase와 maltase 단백질 분획을 SDS-PAGE 전기영동으로 분석한 결과, 분자량이 20만 이상과 15만 정도의 위치에서 단백질 밴드가 검출됨을 확인하여 보고된 돼지 소장 효소의 동일한 분자량을 확인할 수 있었다(data not shown). 한편 정제된 효소의 온도 및 pH에 따른 효소활성을 측정 한 결과, sucrase는 40°C와 약산성(pH 5~6) 부근에서 최고의 효소활성을 보였으며 maltase는 50°C와 중성(pH 6~7)에서 최고의 활성을 나타내었다(data not shown). 막 수송체인 SGLT는 항체를 이용한 효소면역활성을 이용하여 검출하였으며 표품 SGLT과 비교하여 정량 하였다. 이때 정제된 단백질은 소장에서 분리한 단백질보다 130배에서 200배 가량 순도가 증가하였음을 확인할 수 있었다(Table 1).

2. 면역 접종 횟수에 따른 항체 역가

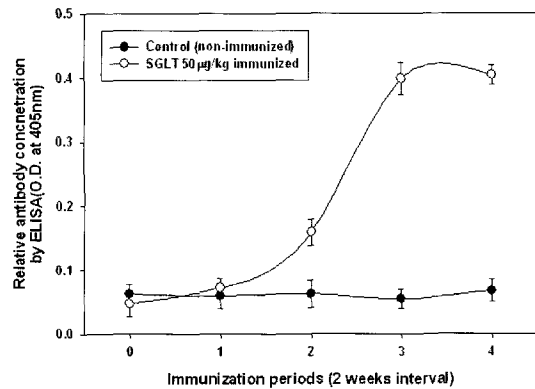


Fig. 4. Anti-SGLT titer increment in accordance with immunization periods.

정제된 단백질을 이용하여 산란계에 면역 접종을 수행하였다. 그 결과, 2차 접종 이후에 SGLT에 대한 항체가 산란계의 혈청 내에서 생성되기 시작하였으며 3차 접종 이후 최고치를 유지하였다(Fig. 4). 이는 기존에 보고된 4-5차 면역접종 후 최고의 항체 생산을 나타내는 보고와 비교하였을 때 우수한 결과였다.

3. In vitro에서 난황항체를 이용한 sucrase, maltase 활성의 저해

항원으로 사용한 maltase 대한 항체의 저해 효과를 보기 위해서 maltose 10% 용액을 기질로 하여

Table 1. Purification table of maltase, sucrase and SGLT.

Specific activity	Crude extract	Membrane vesicle	DEAE chromatography	Phenyl chromatography
Maltase(mU/mg protein)	1.2	48	90	150
Sucrase(mU/mg protein)	1.0	45	85	130
SGLT(µg/mg protein)	1.0	51	110	210

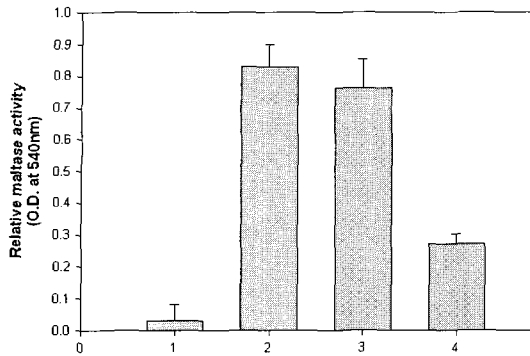


Fig. 5. Maltase activity inhibition experiment by IgY
 1: sucrose only
 2: sucrose + maltase
 3: sucrose + maltase + control IgY
 4: sucrose + maltase + anti-maltase IgY

효소 반응 후 기질 분해 산물인 glucose의 농도를 측정하여 효소활성의 저해 정도를 평가하였다. 음성 대조군으로는 기질만 사용한 군, 양성 대조군으로는 기질과 효소를 첨가한 군으로 하였으며 여기에 조정제된 면역 접종한 군의 난황항체(0.5-5 mg/ml) 및 비면역 접종 군의 난황항체(0.5-5 mg/ml)를 첨가하여 효소 활성의 저해를 확인한 결과, 면역접종 군에서 흡광도를 비교 시, 최고 64% 이상의 저해를 나타내었으며 일반난황항체의 경우에는 10% 내외의 비특이적 저해를 나타내었다(Fig. 5).

또한 sucrase에 대한 항체의 저해 효과를 보기 위해서 sucrose 10% 용액을 기질로 하여 효소 반응 후 상기와 같은 방법으로 효소활성의 저해 정도를 평가하였다. 마찬가지로 음성 대조군으로는 기질만 사용하였고 양성 대조군으로는 기질과 효소를 첨가한 군으로 하였으며 여기에 조정제된 면역 접종한 군의 난황항체(0.5-5 mg/ml) 및 비면역 접종 군의 난황항체(0.5-5 mg/ml)를 첨가하여 효소 활성의 저해를 확인하였다. 그 결과, 면역접종 군에서 흡광도를 비교 시, anti-sucrase 난황항체의 경우최고 55% 이상의 sucrase 활성저해를 나타내었으며 비특이 난황항체의 경우에는 10% 미만의 비특이적 저해를 나타내었다(Fig. 6). 따라서 본 연구에서 제조한 항체가 효소와 특이적으로 반응하여 효소의 활성을 직접적으로 저해함을 확인할 수 있었다.

4. In vivo에서 동물을 이용한 난황항체를 이용한 탄수화물 흡수 억제 효과

실험동물(SD rat, 8주령)에게 1 mg 및 5 mg/kg의

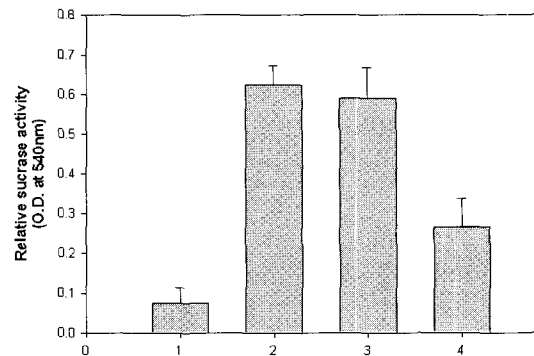


Fig. 6. Sucrase activity inhibition experiment by IgY
 1: sucrose only
 2: sucrose + sucrose
 3: sucrose + sucrose + control IgY
 4: sucrose + sucrose + anti-maltase IgY

난황항체를 경구투여하고 15분 경과 후, 200 mg/kg의 sucrose, maltose 및 glucose를 경구 투여하여 10분 간격으로 60분 동안 꼬리 미정맥으로부터 혈액을 채취하여 혈장을 분리한 후 혈당변화량을 측정 한 결과는 Fig. 7, 8, 9와 같다.

난황항체를 투여하지 않은 대조군에서는 혈당량이 시간이 경과함에 따라 증가하여 30분에 최고치를 나타내었으며 그 이후로 혈당 증가량이 감소하여 60분이 경과하면 다시 정상치로 내려오는 양상을 보였다. 한편 난황항체를 첨가한 경우에는 sucrose, maltose, glucose를 투여한 군 모두에서 대조군에 비해서 혈당의 증가 정도가 낮았다. 30분을 기준으로 대조군의 경우에는 sucrose, maltose, glucose에서 24 mg/dL, 28 mg/dL, 29 mg/dL의 혈당 증가를 보였으나 난황항체를 투여한 군의 경우에는 각각

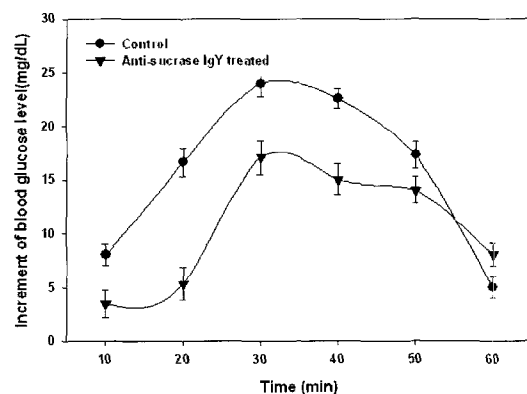


Fig. 7. Inhibition of sucrase activity by anti-sucrase IgY in vivo.

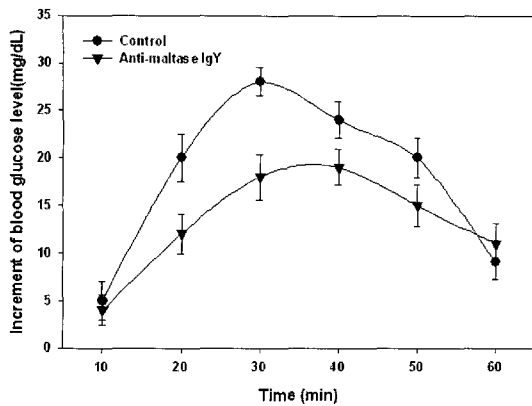


Fig. 8. Inhibition of maltase activity by anti-maltase IgY in vivo.

16 mg/dL, 17 mg/dL, 13 mg/dL로 대조군에 비해서 약 33%, 45%, 66% 내외의 혈당 증가량의 저해를 보였다. 이로써 sucrase 및 maltase 등의 효소 활성 저해 및 SGLT에 의한 glucose의 흡수도 저해됨을 확인할 수 있었다.

IV. 결 론

본 연구에서는 한국인의 식생활 패턴에서 섭취 비중이 가장 높은 탄수화물의 체내 소화, 흡수를 억제하기 위한 방법으로 난황항체를 이용하였다. 돼지 소장 점막 조직으로부터 탄수화물의 최종 소화, 흡수에 관여하는 sucrase, maltase 등의 효소와 단당의 체내 흡수에 관여하는 SGLT를 분리, 정제할 수 있었으며, 이를 항원으로 이용하여 산란계에 면역 접종하여 그 달걀에 각 항원에 대한 항체가 생성됨을 확인할 수 있었다. 또한 이 난황항체를 정제하여 각 효소 및 SGLT의 활성에 대한 저해 효과를 조사한 결과, *in vitro*에서 maltase의 활성이 최고 64%, sucrase의 활성이 55% 저해됨을 보였다. 한편 rat을 이용한 동물 실험의 결과에서도 30분을 기준으로 난황항체를 투여한 군이 대조군에 비해서 sucrose, maltose, glucose를 투여한 경우, 각각 약 33%, 45%, 66% 내외의 혈당 증가량의 저해를 보여서 난황항체를 이용하여 체내 탄수화물의 소화, 흡수의 억제가 가능함을 확인하였다. 또한 사람에게 난황항체를 투여하지 않은 군과 투여한 군에게 설탕을 투여하고 혈당의 변화를 측정된 결과에서도 난황항체를 투여한 군에서 20-30% 정도의 혈당 증가량의 저해를 확인할 수 있었다. 본 연구 결과는 인간과 생리적으로

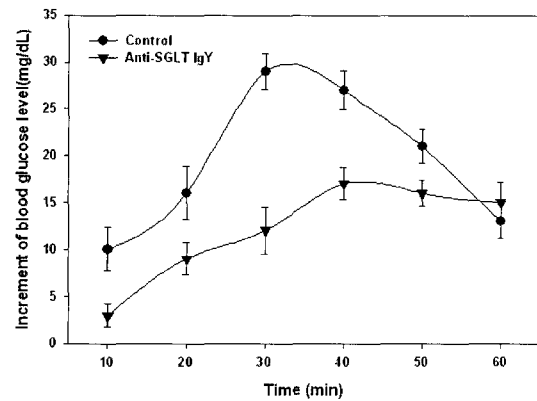


Fig. 9. Inhibition of glucose uptake through SGLT by anti-SGLT IgY in vivo.

유사한 돼지소장의 효소와 단백질에 대한 난황항체가 섭취된 당의 체내 흡수율을 감소시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 따라서 본 난황항체는 새로운 개념의 혈당 조절용 식품 및 다이어트 식품의 원료로서 사용이 가능할 것으로 사료되며 현재 대부분 수입되고 있는 혈당 조절식품 및 다이어트 식품원료의 대체가 가능하리라 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 보건복지부의 벤처 및 중소기업기술개발사업에서 지원하는 연구비에 의해 수행되었습니다(과제번호 01-PJ4-PG4-01VN01-0298).

참고문헌

1. Moe, A.J. and Jackson, M.J.: Isolation and characterization of brush border membrane vesicles from pig small intestine. *Comp. Biochem. Physiol.*, 88(3):511-7, 1987
2. Lee, W.S., Kanai, Y., Wells R.G., and Hediger M.A.: The high affinity Na⁺/glucose cotransporter. Re-evaluation of function and distribution of expression. *J. Biol. Chem.*, 22;269(16):12032-9, 1994
3. Davidson, N.O., Hausman, A.M., Ifkovits, C.A., Buse, J.B., Gould, G.W., Burant, C.F., and Bell, G.L.: Human intestinal glucose transporter expression and localization of GLUT5. *Am. J. Physiol.*, 262(3 Pt 1):C795-800, 1992
4. Diez-Sampedro, A., Lostao, M.P., Wright, E.M., and Hirayama, B.A.: Glycoside binding and translocation in Na⁺-dependent glucose cotransporters: comparison of SGLT1 and SGLT3. *J. Membr. Biol.*, 15;176(2):111-7, 2000
5. Hatta, H., Kim, M., and Yamamoto, T.: A novel isolation method for hen egg yolk antibody, "IgY", *Agric. Biol. Chem.*, 54: 2531-5, 1990

6. Akita, E.M., and Nakai, S.: Comparison of four purification methods for the production of immunoglobulins from eggs laid by hens immunized with an enterotoxigenic *E. coli* strain, *J. Immunol. Methods*, 160: 207-214, 1993
7. Hajime, H., Tsuda, K., Akachi, S., Kim, M., and Yamamoto, T.: Productivity and some properties of egg yolk antibody(IgY) against human rotavirus compared with rabbit IgG, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57:450-4, 1993
8. Rodriguez, I.R., Taravel, F.R., and Whelan, W.J.: Characterization and function of pig intestinal sucrase-isomaltase and its separate subunits. *Eur. J. Biochem.*, 17;143(3):575-82, 1984
9. Carlsen, J., Christiansen, K., and Bro, B., Purification of microvillus membrane vesicles from pig small intestine by immunoadsorbent chromatography. *Biochim. Biophys. Acta.*, 689(1):12-20, 1982
10. Sjostrom, H., Noren, O., Christiansen, L., Wacker, H., and Semenza, G.: A fully active, two-active-site, single-chain sucrase-isomaltase from pig small intestine. Implications for the biosynthesis of a mammalian integral stalked membrane protein. *J. Biol. Chem.*, 10;255(23): 11332-8, 1980
11. Wacker, H., Aggeler, R., Kretchmer, N., O'Neill, B., Takesue, Y., and Semenza, G.: A two-active site one-polypeptide enzyme: the isomaltase from sea lion small intestinal brush-border membrane. Its possible phylogenetic relationship with sucrase-isomaltase. *J. Biol. Chem.*, 25;259(8):4878-84, 1984
12. Sorensen, S.H., Noren, O., Sjostrom, H., and Danielsen, E.M.: Amphiphilic pig intestinal microvillus maltase/glucoamylase. Structure and specificity. *Eur. J. Biochem.*, 1;126(3):559-68, 1982
13. Halaihel, N., Gerbaud, D., Vasseur, M., and Alvarado, F.: Heterogeneity of pig intestinal D-glucose transport systems. *Am. J. Physiol.*, 277(6 Pt 1):C1130-41, 1999
14. Panayotova, H.M., Loo, D.D., Kong, C.T., Lever, J.E., and Wright, E.M.: Sugar binding to Na⁺/glucose cotransporters is determined by the carboxyl-terminal half of the protein. *J. Biol. Chem.*, 26;271(17):10029-34, 1996

(2002년 1월 9일 접수, 2002년 1월 23일 채택)