



이차원 전기영동을 이용한 *Lactobacillus acidophilus* Strains의 Shiga Toxin-producing *E. coli* (STEC) 부착 억제와 관련된 단백질 발현 변화 분석

김 영 훈 · 문 용 일^{1*}

고려대학교 식품과학부, ¹우석대학교 동물건강관리학과

Comparison of Specific Proteins of Shiga Toxin-producing *E. coli* (STEC) Adhesion by *Lactobacillus acidophilus* Strains Using Two Dimensional Gel Electrophoresis

Younghoon Kim and Yong-Il Moon¹

Division of Food Science, Korea University, Seoul 136-701, Korea

¹Department of Animal Health Management, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

Abstract

Probiotics including *Lactobacillus acidophilus*, refer to a group of nonpathogenic organisms that protect the human host against gastrointestinal(GI) infections by pathogenic bacteria such as Shiga toxin-producing *E. coli*(STEC). In the study, the inhibitory effects of STEC ATCC 43894 adhesion by *L. acidophilus* A4 was investigated on the HT-29 epithelial cells. Specific proteins regulated by cell lysates of *L. acidophilus* A4 on STEC ATCC 43894 were also characterized by proteomic analysis. Both cell mass and lysate of *L. acidophilus* A4 have exhibited the profound inhibitory activity on the HT-29 cells(about 1.5 log scale reduction). Two-dimensional gel electrophoresis(2-DE) revealed seven proteins that were up-regulated by cell lysates of *L. acidophilus* A4 and three proteins that were down-regulated. In addition, three protein spots were only detected in the presence of cell lysates. These results suggest that inhibitory effects of STEC adhesion by *L. acidophilus* may be due to the regulation of specific protein of STEC.

Key words : STEC adhesion, *Lactobacillus acidophilus*, cell lysate, two dimensional gel electrophoresis

서 론

Escherichia coli O157:H7를 포함하는 Shiga toxin-producing *E. coli*(STEC)은 미국과 일본 등 선진국에서 대량 식중독 사태를 일으킨 바 있으며 감염시 출혈성 요독 증후군(hemolytic uremic syndrome)과 출혈성 장염(hemolytic colitis)등의 증상을 나타내며 특히, 면역능이 약한 유아나 노약자의 경우에는 사망에까지 이르게 되는 치명적인 병원성 미생물로 알려져 있다(양 등, 1999). 이러한 병원균의 치료 및 예방을 위해 주로 항생제가 사용되고 있지만 병원성 미생물

들의 항생제에 대한 내성이 증가하면서 이들에 의한 피해가 증가하면서 최근 들어 화학요법이 아닌 장내 내재 균총인 probiotics에 의한 장내 균총 조절과 병원성 미생물 예방에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 하지만 이에 대한 병원성 미생물 억제에 대한 기작과 물질에 대한 규명은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않아 이에 대한 연구가 시급한 실정이다. 특히, 이러한 병원성 미생물이 장내에서 감염하여 병원성을 나타내기 위한 선결조건은 장 상피세포에 부착하여 균락을 형성하는 것이다(Falkow *et al.*, 1992). 따라서 이들의 부착 능력을 저해하는 것은 직접적으로 이들의 감염에 의한 병원성을 감소시킬 수 있어 최근 들어 유산균에 의한 병원성 미생물의 부착 억제와 관련되는 다양한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Lee *et al.*, 2003).

* Corresponding author : Y. I. Moon, Department of Animal Health Management, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea. Tel : 82-63-290-1488, E-mail: yimoon@woosuk.ac.kr

*Lactobacillus acidophilus*를 포함하는 *Lactobacillus* 균주는 발효를 통해 젖산 및 여러 가지 대사 산물을 생산하는 균으로 각종 발효 식품, 의약품, 가축사료 첨가제 등의 제조에 광범위하게 이용되고 있으며 최근에는 건강 증진 및 질병 예방의 특징을 가지는 probiotics 균주의 연구와 적용이 증가하고 있다(Fuller, 1989). 특히, 최근 들어 유산균은 다양한 병원성 미생물과 장 상피세포의 표면에 부착할 수 있는 receptor를 공유하고 있다는 보고가 있으나, 아직 그 성분에 대한 세부적인 연구는 부족한 실정이다(Lee and Puong, 2002). 특히, STEC의 경우 최근 들어 다양한 유산균의 상등액과 세포 파쇄물을 이용하여 장 상피세포의 부착 억제와 이들이 생성하는 Shiga-like toxin 중화 등 이들의 병원성을 저감화시키는 소재가 탐색되고 있으나 아직까지 유산균이 생성하는 병원성 저해 활성 물질에 대한 규명은 미흡한 실정이다(Kim *et al.*, 2001).

이차원 전기영동을 이용한 단백질체학(proteomics)은 단백질 수준에서 조절 관련 유전자 발현에 대한 특성을 파악하고 다양한 외부 환경의 변화에 의해 조절되는 단백질의 발현 정보를 얻을 수 있는 새로운 기술이다(Pandey and Mann, 2000). 각각의 조직 및 세포 수준에서 발현되는 단백질 연구에 있어서 이차원 전기영동 기술은 하나의 gel 상에서 수천종의 단백질을 분리함으로써 최근 들어 그 중요성이 강조되고 있는 기술 중 하나이다(Oh *et al.*, 2004). 특히, 유전자 수준이 아닌 실제 function을 가지는 단백질의 발현 변화를 mass spectrometry(MS) 기술과 접목하여 비교적 손쉽고 빠르게 많은 시료를 분석할 수 있어 다양한 질병의 biomarker의 개발 등 그 활용범위가 점점 확대되고 있다(Soren *et al.*, 2001).

본 실험에서는 선행 연구에 의해 장 상피세포의 부착 능력이 우수한 것으로 보고된 *L. acidophilus* A4를 대상으로(김 등, 2004) 세포 파쇄물을 제조하여 STEC의 장 상피세포 부착 억제 능력을 평가하였으며 세포 파쇄물의 첨가시 STEC의 세포내 단백질 발현 양상을 이차원 전기영동을 이용하여 분석하였다.

재료 및 방법

사용균주, 배양조건 및 보존

본 실험에서 사용된 균주는 고려대학교 유가공학 실험실에 보관중인 균주들과 ATCC(American Type Culture Collections)에서 분양받은 균주를 사용하였다. 유산균주는 MRS broth(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 이용하여 37°C에서 18시간 3회 계대배양하여 사용하였고 Shiga toxin-producing *E. coli*(STEC) ATCC 43894 - American Type Cul-

ture Collection (ATCC Manassas, Virginia, USA)는 Luria-Bertani Broth(Difco, USA) 배지에 37°C에서 18시간 진탕배양 후 사용하였다. 모든 균주는 각각의 배지에서 배양 후 원심분리(2,000×g, 30 min)하여 균체만 회수한 후 탈지분유(10%), Lactose(2%), Yeast extract(0.3%)가 함유된 배지를 혼합한 후, 동결 건조시켜 -80°C에서 보관하면서 사용하였다.

세포 파쇄물 (Cell Lysate)

100 ml MRS broth에 3차 계대배양된 유산균주를 1% 접종하고 (10⁶ cfu/ml) 37°C에서 18시간 배양한 후 원심분리(8,000 ×g, 30 min, 4°C)하여 균체를 회수하였다. Phosphate buffered- saline(PBS)로 2회 세척을 실시한 후 최종 20mL의 현탁한 후 20분 동안 2분 간격으로 sonication(UP200H ultrasonic processor, Dr. Hielscher, Germany)을 실시하여 세포를 파쇄하였다. 원심분리하여 상등액을 회수한 후 멸균 filter로 여과 (0.22 mm pore size; Sartorius, USA)한 후 동결 건조하고 -80 °C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

장 상피세포주 배양

본 연구에 사용된 장 상피세포는 HT-29로써 Korean Cell Line Bank(KCLB; Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. HT-29 세포는 열 비활성화된 10% 우태아 혈청(FBS)이 첨가된 RPMI 1640(Gibco BRL Life Technologies Inc., Grand Island, NY, USA) 배지를 이용하여 5% CO₂ 존재 하에 37°C에서 배양하였다. 부착 억제 실험을 위해 HT-29 세포는 well 당 2.0×10⁵ cells/mL의 수가 되도록 24 well-plate에 분주하였고 격일로 배지를 교환하며 완전하게 monolayer를 형성할 때까지 배양하여 실험에 사용하였다.

유산균주와 세포파쇄물에 의한 STEC ATCC 43894 균주의 장 상피세포 부착 억제

장 상피세포 부착 억제 실험은 김 등(2004)의 방법을 변형하여 실시하였다. 완전 monolayer를 형성한 HT-29 세포는 25°C의 PBS buffer를 이용하여 3회 세척하고 항생제가 첨가되지 않은 RPMI 1640 배지 0.5 mL를 첨가하였다. 유산균주의 경우 1.0×10⁹ cfu/mL의 농도가 되도록 PBS에 현탁한 다음 각 well plate에 접종하고 5% CO₂ 존재 하에 37°C에서 2시간 배양을 실시하였다. 배양이 완료된 후 부착되지 않은 유산균의 제거하기 위해 PBS buffer로 3회, 3분씩 200rpm의 속도로 교반하면서 세척을 실시하였다. 세척이 완료된 후 1.0×10⁷ cfu/mL의 농도로 PBS에 현탁된 STEC ATCC 43894 균주를 접종하고 다시 5% CO₂ 존재 하에 37°C에서 1시간 배양을 실시하였다. 세포 파쇄물의 경우 10 mg/mL(dry matter 기준)의 농도로 PBS에 현탁한 후 동일한 균주의 STEC

ATCC 43894 균주를 접종하고 1시간 배양을 실시하였다. 부착되지 않은 STEC ATCC 43894 균주를 제거하기 위해 PBS buffer로 5회, 1분씩 200rpm의 속도로 교반하면서 세척을 실시하였다. 세척이 완료된 후 0.2% Trypsin-EDTA를 분주하여 부착되어 있는 세포를 떼어내고 peptone 수를 이용한 연속희석법으로 MacConkey agar(Difco, USA)에 평판 도말하고 37°C에서 24시간 배양하여 균수를 측정하였다.

단백질 시료의 제조

Overnight 배양된 STEC ATCC 43894 균주를 *L. acidophilus* A4의 세포파쇄물 10 mg/mL가 첨가된 LB에 1% 접종하고 37°C에서 2시간 배양을 실시하였다. 배양이 종료된 후 원심분리하여 회수된 cell pellet은 PBS로 2회 세척을 실시한 후 최종적으로 lysis buffer(40 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5)로 현탁한 후 sonication(30초 간격으로 5분간)을 실시하여 세포내 단백질을 회수하였다. 얻어진 단백질은 Arevalo-Ferro 등(2003)의 방법대로 phenol(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)과 acetone 침전법을 이용하여 추출하였다. 최종적으로 얻어진 단백질은 Bradford reagent(Bio-Rad, Richmond, CA, USA)를 이용하여 정량한 후 -80°C에서 실험 전까지 보관하며 단백질 시료로 사용하였다.

이차원 전기영동

이차원 전기영동은 O'Farrell의 방법(1975)에 준하여 실시하였다. 준비된 700 µg의 단백질 시료는 최종 volume이 320 µL가 되도록 rehydration buffer(8 M urea, 2% CHAPS, 100 mM DTT, 0.2% ampholyte, 0.0001% bromophenol blue)에 혼합한 후 ReadyStrip(17cm, non linear, Bio-Rad, USA)을 이용하여 20°C에서 12시간 동안 rehydration 실시하였다. 이후 Isoelectric focusing apparatus(Bio-Rad, USA)을 이용하여 250 V에서 30분, 500 V에서 30분, 1,000 V에서 30분, 8,000 V에서 3시간, 8,000 V에서 25,000Vh, 500 V에서 30분간 focusing을 실시하였다. 평형화를 위해 equilibration buffer I(6 M urea, 2% SDS, 20% glycerol, 130 mM DTT, 0.375 M Tris-HCl, pH 8.8)와 equilibration buffer II(6 M urea, 2% SDS, 20% glycerol, 135 mM idoacetamide, 0.375 M Tris-HCl, pH 8.8)에 각각 15분간 침지한 후 .12.5% SDS-PAGE(20×20cm)에 옮기고 0.5% agarose gel로 sealing하고 gel당 20 mA으로 4°C에서 12시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 완료된 후 1시간동안 fixation(20% methanol, 10% phosphoric acid)한 후 Candiano 등(2004)의 방법에 따라 Coomassie blue G-250으로 구성된 Blue silver solution(0.12% dye, 10% ammonium sulfate, 10% phosphoric acid, and 20% methanol)으로 염색을 실시하였다. 염색된 gel은 UMAX scanner (800×

1,600 dpi, UMAX, UTA 2100XL, USA)를 이용하여 scan을 실시한 후 PDQuest image analysis software(Bio-Rad, USA)를 이용하여 최소 3배 이상 발현이 증가되거나 감소하는 spot을 탐색하였다. 분리된 단백질의 대략적인 분자량은 prestained molecular weight marker(RPN 800; Amersham, Sweden)를 이용하여 측정하였다.

통계분석

모든 실험은 3반복을 실시하였으며 실험 결과는 SAS program을 이용하여 각 처리구간의 총균수의 차이를 $p < 0.05$ 수준에서 *t*-test를 실시하였다.

결과 및 고찰

세포파쇄물에 의한 STEC ATCC 43894 균주의 장 상피세포 부착 억제

최근 들어 Probiotics를 이용한 *Salmonella typhimurium*, pathogenic *E. coli* 등 다양한 병원성 미생물의 예방 및 억제 효과에 대한 보고가 계속되고 있다(Matter *et al.*, 2002). 선행 연구에서 본 연구진은 다양한 근원에서 분리한 유산균주를 대상으로 유산균주의 장 상피세포 부착 능력과 함께 STEC ATCC 43889의 부착 억제 능력을 탐색하였다. 본 연구에 사용된 *L. acidophilus* A4는 기존 많은 연구에 의해 장 상피세포에 높은 부착 능력을 가지는 것으로 보고되고 있는 *L. rhamnosus* GG(LGG)와 비교했을 때 HT-29 세포에 높은 수준($10^6 \sim 10^7$ cfu/ml)으로 부착하는 것으로 나타났으며 또한, 이들은 높은 STEC ATCC 43889 부착 저해 능력도 관찰되었다(김 등, 2004). 본 연구에서는 균체에 의한 저해효과와 함께 이들의 세포파쇄물의 STEC 부착억제 능력을 관찰하였다. 흥미롭게도 10 mg/mL의 세포파쇄물이 존재하였을 때 10^9 cfu/mL의 균체가 존재했을 때와 유사한 수준으로 대략 1.5 log 수준의 부착 저해 효과가 관찰되었다(Fig. 1). Positive control로 사용되었던 LGG의 경우도 유사하게 저해능력이 관찰되었다. 하지만, *L. plantarum* 299v의 상등액에서 1 log 미만의 *E. coli* O157:H7의 부착 억제능력이 관찰되었다는 Mark 등(1999)의 보고와는 다르게 *L. acidophilus* A4의 상등액에서는 그 저해 효과가 세포 파쇄물의 5~10% 정도 수준으로 관찰되었다(data not shown). 따라서 *L. acidophilus* A4의 STEC의 부착 억제는 주로 세포 파쇄물 내에 존재하는 성분에 의한 것으로 판단되었다. 최근 Lee and Puong(2002)은 유산균의 세포 표면에 존재하는 당 성분이 병원성 미생물의 부착을 억제하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. 흥미롭게도 *L. acidophilus* A4의 세포 파쇄물은 STEC이 생성하고 분비하는 Shiga-like toxin의 독성을 저해하는 효과도 관찰되

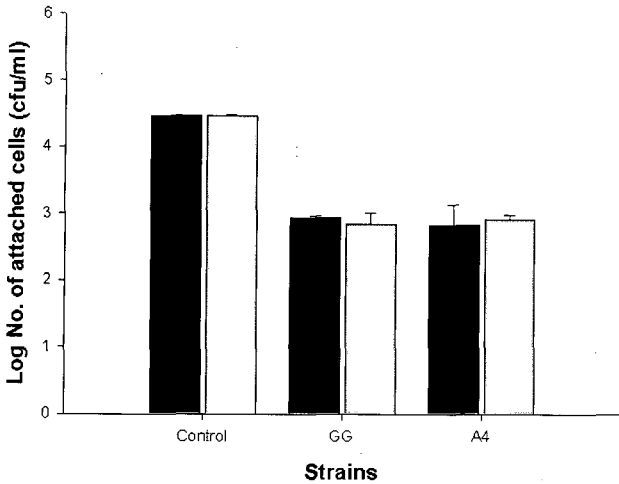


Fig. 1. Effect of strains of *L. acidophilus* A4 on adhesion of STEC ATCC 43894 on HT-29 cells (Black bars: 10⁹ cfu/mL of cell masses, grey bars: 10 mg/mL of cell lysates).

었다(Kim *et al.*, unpublished data). 따라서 현재 본 연구진은 세포 파쇄물에서 STEC의 부착을 억제하는 특정 물질의 분리, 정제를 당 분해를 중심으로 진행 중에 있다. 추가적으로, cell lysate의 pH는 6.25로 측정되었으며 이에 따른 병원균의 성장 자체에는 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다.

이차원 전기영동 분석

이차원 전기영동을 이용한 단백질체학 연구의 목표는 단백질 미량 분석 기술과 접목하여 gel상에 나타난 단백질을 계층 정보의 특정 유전자와 연결하여 유전자의 최종 산물인 단백질과의 상관관계를 데이터 베이스화 하는 것이다. 특히, 국내에서도 병원성 미생물과 연계하여 단백질체학 연구는 병원균의 역할 조사 및 병원성 발현 기작의 규명 등의 연구에 광범위하게 응용되고 있다(안 등, 2002).

본 연구에서는 *L. acidophilus* A4의 세포 파쇄물이 STEC의 부착에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 10 mg/mL의 세포 파쇄물이 첨가된 배지에서 STEC의 단백질 발현 양상을 확인하였다. 각 처리구에서 추출된 단백질은 nonlinear IPG strip(pH 3~10)을 이용하여 등전점 전기영동후 SDS-PAGE에서 전개하고 Blue silver staining을 이용하여 spot을 관찰하였다. 각 gel의 image에서 평균적으로 800개의 spot을 관찰할 수 있었으며 이중 2배 이상의 발현 차이를 보이는 13개의 spot을 선별하였다(Fig. 2과 3). 7개의 spot(Spot 1, 2, 3, 4, 5, 9, 그리고 10)은 세포 파쇄물이 첨가되었을 때 발현이 증가하였으며 3개(Spot 6, 7, 그리고 8)의 spot은 발현이 감소하였다. 흥미롭게도 3개의 단백질 spot (Spot 11, 12, 그리고 13)은 세포 파쇄물이 존재할 때만 발현되는 것을 확인하였다(Table 1). 현재 본 연구진은 13개의 spot을 대상으로 matrix-

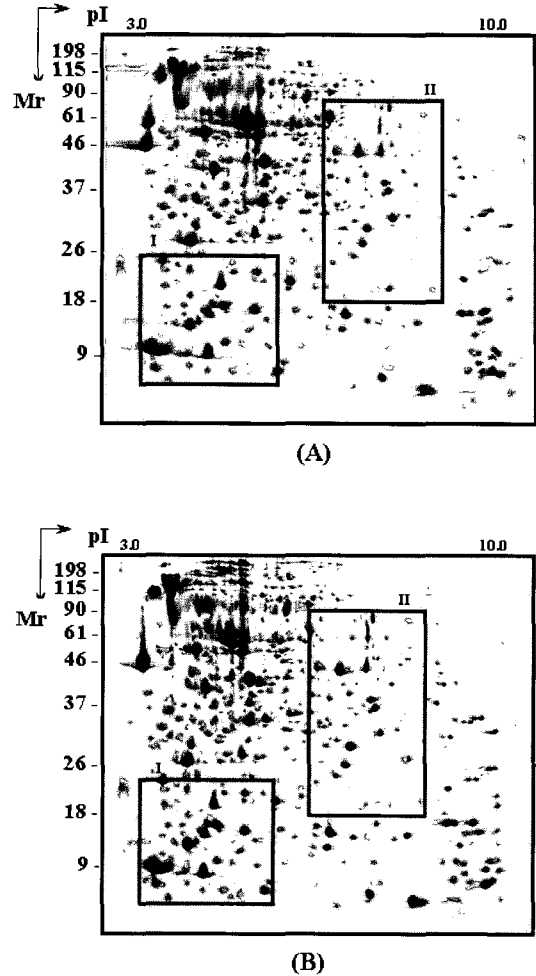


Fig. 2. Two dimensional gel electrophoresis images of protein extracts of STEC ATCC 43894 exposed to control (A) and 10 mg/mL cell lysates of *L. acidophilus* A4 (B). The crude protein extracts (700 µg) were separated on pH 3.0 to 10.0 nonlinear IPG strips, following by 12.5% SDS-PAGE. Outlined sections in A and B indicate zones presented in Fig. 3.

assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry(MALDI-TOF/MS)와 proteome database를 이용하여 단백질 규명 및 관련 기능을 확인 중에 있다. Probiotics에 의한 병원성 미생물의 부착 억제 효과는 주로 장관 내 pH의 저하와 병원성 미생물에 항균성을 나타내는 박테리오파지와 같은 물질의 생산에 의한 것으로 보고되었다(Matter *et al.*, 2002). 하지만 최근 들어 병원성 미생물과 장 상피세포의 수용체 결합(Mack *et al.*, 1999) 또는 병원성 미생물의 병원성 관련 특정 단백질의 발현을 변화시킨다는 보고(Bergonzelli *et al.*, 2006)가 이루어지면서 이와 관련된 다양한 신기능성 물질 탐색에 대한 연구가 계속되고 있다. 하지만 식품 유래의 신규물질을 대상으로 병원균의 저감화와 관련된 단백질의 탐색에 관한

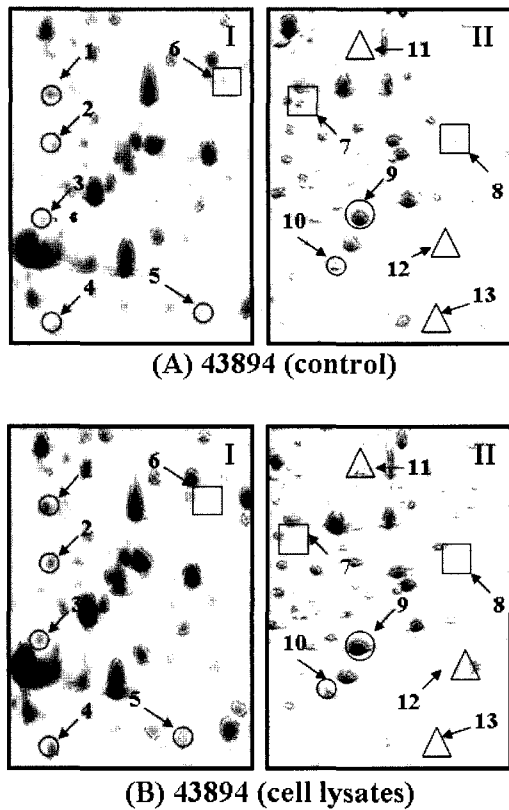


Fig. 3. Enlarged partial two dimensional images representing crude protein extracts of STEC ATCC 43894 exposed to control (A) and 10 mg/ml cell lysates of *L. acidophilus* A4 (B). Circled and boxed protein spots indicate proteins that are up and down regulated in the presence of 10 mg/mL cell lysates of *L. acidophilus* A4, respectively. Triangled spots indicate proteins that are only detected in the in the presence of 10 mg/ml cell lysates of *L. acidophilus* A4.

연구는 아직까지 그리 많지 않은 실정이다. 식품 유래는 아니지만 Nalca 등(2006)은 이차원 전기영동과 DNA microarray를 이용하여 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1을 대상으로 이들의 병원성을 저감화시키는 azithromycin을 첨가하였을 때 type III secretion system, 산화 스트레스와 관련된 단백질과 유전자의 발현이 특이적으로 감소하는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구진은 유산균 세포 파쇄물에 의한 특정 병원성 인자의 저감화 활성을 탐색하고 이를 이용하여 새로운 개념의 항균 물질의 개발에 활용하고자 지속적으로 관련 연구를 진행 중에 있다.

본 연구는 STEC의 병원성을 저감화시킬 수 있는 식품 소재의 탐색과 이들의 작용 메커니즘을 규명하는데 중요한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

최근 들어 병원성 미생물의 저감화를 위하여 기존의 항생제 계열의 항균물질이 아닌 새로운 개념의 신소재 개발이 활발하게 진행 중에 있다. 특히, 이러한 신개념의 병원성 저감화 소재 중 인간의 장내에 존재하는 probiotics 균주의 특성을 이용하여 병원성 미생물을 예방하는 것은 보다 효과적인 방법 중의 하나가 될 수 있을 것으로 판단된다. 본 실험에서는 HT-29 cell을 대상으로 *L. acidophilus*의 균체와 세포 파쇄물을 대상으로 STEC ATCC 43894의 장 상피세포 부착 능력을 측정하였다. 10 mg/mL의 세포 파쇄물이 존재하였을 때 10^9 cfu/mL의 균체가 존재했을 때와 유사한 수준으로 STEC ATCC 43894의 부착 저해 효과가 관찰되었다. 하지만, *L. acidophilus* A4의 상등액에서는 그 저해 효과가 세포 파쇄

Table 1. Listed proteins of the STEC ATCC 43894 in the presence of cell lysates of *L. acidophilus* A4 (10 mg/mL) on 2-DE gels

Spot No ^a	Molecular masses (kDa)	pI	Comments
1	22.0	4.5	Increased amounts in the presence of cell lysate
2	19.0	4.5	Increased amounts in the presence of cell lysate
3	11.0	4.4	Increased amounts in the presence of cell lysate
4	7.0	4.5	Increased amounts in the presence of cell lysate
5	7.5	5.4	Increased amounts in the presence of cell lysate
6	24.0	5.5	Decreased amounts in the presence of cell lysate
7	35.0	6.1	Decreased amounts in the presence of cell lysate
8	34.0	7.2	Decreased amounts in the presence of cell lysate
9	26.0	6.4	Increased amounts in the presence of cell lysate
10	24.0	6.2	Increased amounts in the presence of cell lysate
11	46.0	6.5	Only detected in the presence of cell lysate
12	26.5	8.7	Only detected in the presence of cell lysate
13	20.0	8.5	Only detected in the presence of cell lysate

^a Corresponds to the numbers in Fig. 2 and 3.

물의 5~10% 정도 수준으로 관찰되어 그 효과는 매우 적은 것으로 판단되었다. 또한, *L. acidophilus* A4의 세포 파쇄물이 STEC의 부착에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 10 mg/mL의 세포 파쇄물이 첨가된 배지에서 STEC의 단백질 발현 양상을 확인하였다. 각 gel의 image에서 평균적으로 800개의 spot을 관찰할 수 있었으며 이중 2배 이상의 발현 차이를 보이는 13개의 spot을 선별하였다 7개의 spot은 세포 파쇄물이 첨가되었을 때 발현이 증가하였으며 3개의 spot은 발현이 감소하였다. 흥미롭게도 3개의 단백질 spot은 세포 파쇄물이 존재할 때만 발현되는 것을 확인하였다.

명확하지는 않지만 이러한 *L. acidophilus* A4의 세포 파쇄물에 존재하는 물질은 (1)STEC의 부착과 관련된 특정 단백질의 발현을 저해하거나 (2)STEC과 장상 피세포에서의 수용체 결합을 통해 부착을 억제하는 것으로 생각된다. 앞으로 이와 관련된 보다 세부적인 작용 메카니즘 연구 및 생화학적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업(20050401-034-698-151-00-00)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Bergonzelli, G. E., Granato, D., Pridmore, R. D., Marvin-Guy, L. F., Donnicola, D., and Cortesy-Theulaz, I. E. (2006) GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.* **74**, 425-434.
- Candiano, G., Bruschi, M., Musante, L., Santucci, L., Ghiggeri, G. M., Carnemolla, B., Orecchia, P., Zardi, L., and Righetti, P. G. (2004) Blue silver: a very sensitive colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis* **5**, 1327-1333.
- Falkow, S., Isberg, R. R., and Portnoy, D. A. (1992) The interaction of bacteria with mammalian cells. *Annu. Rev. Cell Biol.* **8**, 333-363.
- Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
- Kim, S. H., Yang, S. J., Koo, H. C., Bae, W. K., Kim, J. Y., Park, J. H., Baek, Y. J., and Park, Y. H. (2001) Inhibitory activity of *Bifidobacterium longum* HY8001 against Vero cytotoxin of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Prot.* **64**, 1667-1673.
- Lee, Y. K., Puong, K. Y., Ouwehand, A. C., and Salminen, S. (2003) Displacement of bacterial pathogens from mucus and Caco-2 cell surface by lactobacilli. *J. Med. Microbiol.* **52**, 925-930.
- Lee, Y. K., and Puong, K. Y. (2002) Competition for adhesion between probiotics and human gastrointestinal pathogens in the presence of carbohydrate. *Br. J. Nutr.* **88**(Suppl 1), S101-108.
- Mark, D. R., Michail, S., Wei, S., McDougall, L., and Hollingsworth, M. A. (1999) Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression. *Am. J. Physiol.* **276**, 941-950.
- Matter, A. F., Teitelbaum, D. H., Drongowski, R. A., Yongyi, F., Harmon, C. M., and Coran, A. G. (2002) Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatr. Surg. Int.* **18**, 586-590.
- Nalca, Y., Jansch, L., Bredenbruch, F., Geffers, R., Buer, J., and Haussler, S. (2006) Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 1680-1688.
- O'Farrell, P. H. (1975) High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* **250**, 4007-4021.
- Oh, S., Imm, H., Oh, E., Lee, J., Kim, J. Y., Mun, J., Kim, Y., Lee, E., Kim, J., and Sul, D. (2004) Effects of benzo(a)pyrene on protein expression in Jurkat T-cells. *Proteomics* **4**, 3514-3526.
- Pandey, A. and Mann, M. (2000) Proteomics to study genes and genomes. *Nature* **405**, 837.
- Soren, N. H., Michael, D. W., and Cramer, R. (2001). Proteomics-post-genomic cartography to understand gene function. *Pharmacol. Sci.* **22**, 376.
- 김영훈, 박순옥, 한경식, 오세중, 유승권, 김세현 (2004) *Lactobacillus acidophilus*의 장 상피세포에 대한 부착능력 및 장 출혈성 대장균의 부착 억제 능력. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **24**, 86-91.
- 안영창, 신기욱, 신용승, 이용구, 이형준, 박미림, 김영림, 정태성, 김근섭, 김용환 (2002) 이차원전기영동을 이용한 *Escherichia coli* O157:H7 균주간 항원 Spot의 비교. *Korean. J. Vet. Res.* **42**, 231-239.
- 양수진, 윤장원, 서근석, 구혜정, 김소현, 배형석, 백영진, 박용호 (1999) *Bifidobacterium longum* HY8001 균주의 *Escherichia coli* O157:H7과 *Salmonella typhimurium* DT104 장관 내 감염 예방 효과 및 Vero Cytotoxin 중화 효과. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**(5), 419-425.