



발효김치 중 면역활성 젖산균의 분리 및 특성

최재임[†] · 강승범[†] · 박진호 · 유성호 · 윤성식*

연세대학교 생명과학기술학부

Isolation and Characterization of an Immune-Stimulating Lactic Acid Bacteria from Fermenting kimchi

Jea-Im Choi[†], Seung-Bum Kang[†], Jin-Ho Park, Sung-Ho Yoo, and Sung-Sik Yoon*

Division of Biological Science and Technology, College of Science and Technology,
Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

Abstract: Isolation of *Lactobacillus plantarum* FBT215 (*L. plantarum* FBT215) from fermenting kimchi, which has immunostimulatory effects, was characterized in this study. To isolate probiotic lactic acid bacteria (LAB) from kimchi, properly diluted kimchi samples were spread on MRS agar incorporated BCP and sodium azide. One hundred fifty and four LAB isolates were isolated, screened for immune-stimulatory activities in murine RAW 264.7 cells. Among the 24 LAB strains after MTT assay, FBT215 has shown the best cytokine activity of expression of 676.9 ± 22.2 pg/mL of interleukin IL-1 α and 845.2 ± 31.6 pg/mL of TNF- α . For identification, the typing experiments using 16S rDNA sequencing and API 50 CH kit confirmed that the FBT215 belongs to *Lactobacillus plantarum*, shortly called as *L. plantarum* FBT215. The FBT215 strain showed high antibiotic susceptibility, weak acid tolerance, bile salt tolerance and BSH activity but did not produce bacteriocin against indicator strains tested. API ZYM kit analysis resulted that the *L. plantarum* FBT215 produces seven different kinds of enzymes. In conclusion, these properties would be used as a functional probiotic culture in the manufacture of fermented foods.

Keywords: *Lactobacillus plantarum*, immuno-stimulation, cytokine, TNF- α , IL-1 α , BSH activity

서 론

젖산균 발효식품은 전세계적으로 수많은 종류가 전통적으로 제조 및 소비되고 있으며, 특히 한국의 발효채소 식품인 김치는 우리나라를 대표하는 전통식품으로 그 영양학적 의의가 크다. 국내에서는 지난 90년대부터 김치의 효능에 대한 과학적 연구가 지속적으로 수행되어 왔으며 그 동안 괄목할만한 연구결과들이 축적되었다. 최근 들어 김치 발효과정에 관여하는 다양한 미생물 군 총 중에서 인체의 장관 내에서 유해세균 증식 억제, 아토피 예방, 콜레스테롤 저감효과(Huang *et al.*, 2013), 항 종양 및 항암 활

성(Kumar *et al.*, 2010), 유당불내증 완화(Saltzman *et al.*, 1999) 등을 발휘하는 젖산균들이 보고되면서 이러한 건강 증진효과를 구명하기 위한 체계적인 연구들이 활발하게 수행되고 있다. 보고된 바와 같이 김치의 발효과정 중에는 *Weissella*속, *Leuconostoc*속, *Lactobacillus*속 등이 우점균총을 형성함으로써 발효과정 중 최적의 관능성과 기능성에 기여하는 것으로 널리 알려져 있다. 젖산균은 포도당이나 유당과 같은 탄소원을 이용하여 특히 젖산과 같은 유기산을 다량 생산하는 박테리아로서 인체에 바람직한 효과를 부여하는 대표적인 유용세균이다. 젖산균의 효능으로서 최근 각광을 받고 있는 프로바이오틱스(probiotics)란 인체 내에서 건강에 유익한 효과를 발휘하는 살아있는 세균으로 정의된다. 따라서 젖산균과 같은 유용 미생물이 probiotics의 조건을 만족시키려면 소장까지 이동하는 동안 젖산균이 위산과 담즙산에 대한 내성이 있어야 하고, 장 점막에 정착해서 활발한 증식이 있어야 장내에서 유익한 효능을 발휘할 수 있다. 최근 probiotics의 호흡기 및 알레르기 반응의 개선, 면역 증진효과 등을 구명하려는 연구들이 주목을 받고 있다. probiotic 미생물은 macrophage나

*Corresponding author: Sung-Sik Yoon, Division of Biological Science and Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea.

[†]Equally contributed authors.

Tel: 82-33-760-2251, Fax: 82-33-760-5576

E-mail: sunsik@yonsei.ac.kr

Received December 20, 2013; Revised January 7, 2014;

Accepted January 10, 2014

natural killer(NK) cell 같은 면역세포의 cytokine 발현을 조절한다(Blum *et al.*, 2002). 그리고 젖산균의 선천적 면역체계에 미치는 긍정적인 효과들은 특정한 균주에 국한된 특이적 효능이라고 보고되었다(Perdigón *et al.*, 2001). Cytokine은 직·간접적으로 숙주의 방어체계에 영향을 주는 물질로서 젖산균 섭취에 따라서 그 생체 내 합성이 영향을 받는다. 또한 젖산균 투여에 따라서 백혈구(monocyte)에서 분비되는 interleukin IL-1이나 TNF- α 같은 수용성 요소들도 면역세포의 증식, 활성화, 분화의 중요한 역할을 하는 것으로 보인다(Czarniecki, 1993). IL-1은 T-cell과 B-cell의 증식을 자극하고, TNF- α 은 종양세포에 세포독성 효과를 가지고 있다(Gill, 1998). 본 연구는 여러 종류의 발효 김치 중에서 젖산균을 분리하였고, 분리 주 중에서 면역활성이 우수한 젖산균을 선택하여 그 미생물학적, 생화학적인 특성을 검토함으로써 그 산업적 응용 가능성을 검토하기 위한 기초연구이다.

재료 및 방법

젖산균 분리용 김치 시료

김치에서 젖산균을 분리하기 위하여 일반 대중 음식점 또는 상업적으로 판매되는 김치를 대형마켓에서 구매, 수집하였다. 즉, 김치(배추, 무, 파), 동치미, 백 김치 등을 직접 수집하고 신속하게 실험실로 이송한 후 4°C에 보존하면서 실험에 사용하였다. 김치시료는 생리식염수에 현탁하여 Stomacher(Homogenius, Mayo)를 이용하여 혼합된 미생물의 현탁시킨 다음 적당한 희석하여 사용하였다(Yu *et al.*, 2012).

젖산균의 분리

상기와 같이 현탁 한 샘플 10 g을 생리적 식염수(0.85% NaCl)에 순차적으로 십진희석한 샘플을 BCP (0.1 g/L, Yakuri, Japan)와 sodium azide (0.1 g/L, Sigma)가 함유된 MRS agar 상에 도말하고 37°C에서 24시간 동안 배양한 다음 생성된 집락의 특성 및 그람 염색 결과로부터 젖산균 분리주를 1차 선별하였다. 그람양성균을 선택적으로 증식시키는 sodium azide(Sigma, St. Louis, USA)(Bettache *et al.*, 2012)를 첨가하였으며, BCP(bromocresol purple, Sigma, USA)는 콜로니 주변의 변색을 확인하기 위한 지시약으로 사용하였다(Liasi *et al.*, 2009).

면역활성 시험

본 실험에 사용한 RAW 264.7 cell은 murine macrophage로서 연세대학교 분자약리학 연구실에서 분양을 받아 10% fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin를 첨가한 Dulbecco's modified eagle's minimal essential medium (DMEM)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator(Sanyo, KM-

CC17RU1A)에서 배양하였다(Kim and Ha, 2009). 분리한 젖산균을 Hank's balanced salt solution으로 희석하여 가열처리 하였다. 세포생존율을 확인하기 위하여 MTT assay 하였다. 2×10⁶ cell/mL의 RAW 264.7 cell을 180 μ L씩 분주하고 젖산균 culture 20 μ L씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 3일 동안 배양하였다. 배양액에 MTT 용액(2~5 mg/mL, Sigma)을 100 μ L씩 첨가하고 37°C, 5% CO₂ incubator(Sanyo)에서 4시간 동안 배양시킨 후 MTT 용액을 버리고 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma)를 100 μ L씩 첨가한 다음 30분 동안 진탕, 배양 후 microplate reader (Multiskan FC, Thermo)를 사용하여 540 nm에서 OD값을 측정하였다(Dashkevich and Feighner, 1989). MTT assay 결과로부터 세포독성이 없는 젖산균 분리주를 선별하고 ELIS를 통해 cytokine 분비량을 확인하였다. ELISA kit는 EzWay™pink-ONE cytokine ELISA kit(Koma Biotech, Korea) 제품을 사용하여 TNF- α 와 IL-1 α 를 측정하였다.

항생제 감수성 측정

면역활성을 확인한 젖산균 분리주의 항생제 감수성 실험을 하기 위하여 시판 항생제 disc(BBL BD)를 사용하였다. 항생제 종류로는 ampicillin(10 μ g), streptomycin (10 μ g), gentamycin(10 μ g), erythromycin(15 μ g), oxytetracycline, (30 μ g), neomycin (30 μ g), colistin(10 μ g)을 사용하였다. 37°C incubator(Sanyo)에서 24시간 배양한 젖산균을 MRS soft agar 잘 섞어 중층 배양한 후 항생제 disc를 조심스럽게 올려놓고 37°C에서 24시간 배양하여 투명대의 크기를 측정하였다(Kim, 2004).

내산성 및 내담즙성 실험

젖산균 분리주의 내산성을 확인하기 위하여 인공위액을 제조하였다. 인공위액은 MRS broth에 %(w/v) pepsin(Sigma)을 첨가하고 HCl을 이용하여 pH 2.5, 3.0, 4.0으로 조정하였다. MRS broth에 FBT215주를 37°C incubator에서 24시간 배양한 것을 원심분리하여 상등액을 제거하고 생리적 식염수를 이용하여 2회 세척 후 동량의 인공위액을 첨가하여 1시간 간격으로 3시간 동안 배양한 것을 적절히 희석, 도말한 후 생존균을 계수하였다(Jin, 1998). 담즙에 대한 내성 실험은 oxgall이 0.3%(w/v) 함유된 MRS broth 내에서 증식할 수 있는지 여부를 실험하였다(Gilliland *et al.*, 1984). 인공위액에서 2시간 동안 처리된 젖산균을 원심분리를 통해 인공위액을 제거하고 동량의 oxgall 용액이 첨가된 MRS broth를 넣어 3시간 간격으로 시료를 취하여 상기 방법으로 생존율을 계산하였다.

BSH assay

젖산균 분리주의 BSH(bile salt hydrolase) 활성을 확인하기 위하여 plate assay(Dashkevich and Feighner, 1989)를

변형하여 실험하였다. 젖산균을 MRS broth에 배양한 것을 0.5%(w/v) taurodeoxycholic acid(TDCA, Sigma)와 0.035%(w/v) CaCl_2 (Yakuri, Japan)를 첨가한 MRS agar에 streaking하였다. Anaerobic jar(Merck, Germany)를 이용하여 37°C incubator에 넣어 5일 동안 배양하여 젖산균 colony 주변의 불투명한 환을 확인하였다.

젖산균 분리주의 동정

API CH 50 kit를 이용하여 젖산균 분리주의 당 이용 패턴을 확인하였다. 16S rRNA sequencing은 젖산균 분리주의 genomic DNA를 Dneasy Tissue Kit(Qiagen)을 이용하여 추출하였다. 추출한 Genomic DNA를 PCR master mix와 27 forward primer (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG), 1492 reverse primer(TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T)를 이용하여 PTC 100™(MJ Research Inc)로 PCR하였다. PCR 조건은 95°C에서 5분간 최초 변성과정을 거친 뒤 94°C에서 1분 동안 변성, 48°C에서 1분간 primer 붙이기, 72°C에서 1분간 DNA 연장을 30회 반복한 뒤 마지막으로 72°C에서 5분간 최종 DNA 연장을 진행하였다. PCR한 DNA product를 Cosmo Genetech(korea)에 16S rRNA sequencing을 의뢰하여 실행하였으며, 염기서열의 상동성 검사는 GenBank database(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)를 이용하여 BLAST를 실행하였다.

결 과

젖산균의 분리

젖산균을 분리하기 위하여 여러 종류의 김치 시료를 채취하여 샘플 10 g을 생리식염수에 순차적으로 십진 희석하였다. 십진 희석한 샘플을 BCP(0.1 g/L, Yakuri, Japan)와 sodium azide(0.1 g/L)가 함유된 MRS agar에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 결과 BCP를 노랗게 변화시키는 154주의 colony를 얻었다. 분리 주를 각각 FBT200에서 354까지

임의로 명명하였다. 각 분리 주는 MRS broth에서 배양하고 50% glycerol과 1:1로 혼합하여 70°C deep freezer(Ilsin, Korea)에 동결 보관하였다.

세포생존율 측정과 효소면역 활성

1차로 분리한 154주를 대상으로 MTT assay를 수행하였다. mouse 유래 대식세포인 264.7 cell line을 이용하여 확인한 결과 control의 생존율을 100%를 기준으로 하였을 때 그 이상의 생존율을 보이는 24개의 젖산균 분리 주를 얻었다. 그림에서는 시료를 의미하는 S를 붙여 구별하였고, MTT assay 후 확인된 24개의 균주를 mouse 유래 RAW 264.7 cell에 처리하면서 배양한 다음 ELISA Kit를 이용하여 TNF- α 와 IL-1 α 의 생성능을 각각 비교 확인하였다. TNF- α 는 FBT 202가 1105.3 \pm 30.5 pg/mL로 가장 높았고(Fig. 1), IL-1 α 는 FBT215가 676.9 \pm 22.2 pg/mL로 가장 높았다. 종합적으로 FBT215가 cytokine 생성 능이 가장 좋은 것으로 확인되었다(Fig. 2).

항생제 감수성

항생제 감수성을 확인하기 위하여 MRS soft agar에 *Lactobacillus plantarum* FBT215주를 접종하여 MRS agar에 증충한 뒤 항생제 paper disc(BBL™ Sensi-Disc™, BD, USA)를 사용하여 항생제 감수성을 확인하였다. 7종의 항생제(ampicillin, streptomycin, gentamycin, erythromycin, oxytetracycline, neomycin, colistin) 중 colistin을 제외한 모든 항생제에 감수성을 가지고 있었다(Fig. 3). 특히 그람음성균의 증식을 저해하는 colistin에 대하여 내성을 나타낸 것은 *L. plantarum*이 그람양성균이기 때문으로 생각된다.

내산성 및 내담즙성

FBT215주의 내 산성을 확인하기 위하여 인공위액을 제조하고 pH를 2.5, 3.0, 4.0으로 조절하여 실험을 하였다. 각 pH 조건의 인공위액에서 배양한 FBT215주는 시간별로 생

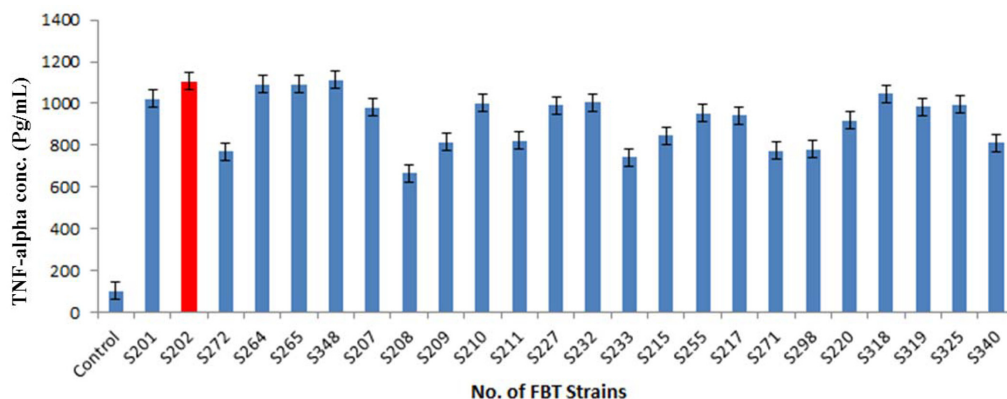


Fig. 1. Immunostimulating activities of lactic acid bacteria strains isolated from Kimchi(TNF- α). Before infecting cells, each strain was heat-treated at 80°C and diluted in HBBS to obtain an optical density of 0.1.

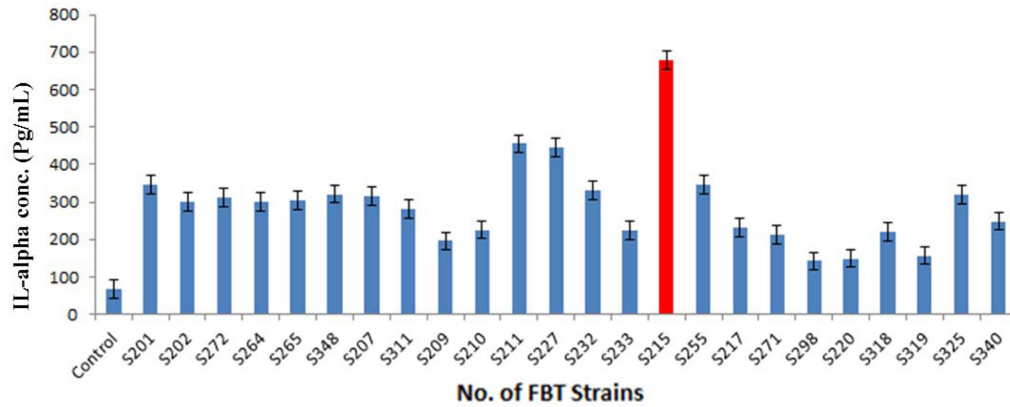


Fig. 2. Immunostimulating activities of lactic acid bacteria strains isolated from Kimchi(IL-1 α). Before infecting cells, each strain was heat-treated at 80°C and diluted in HBBS to obtain an optical density of 0.1.

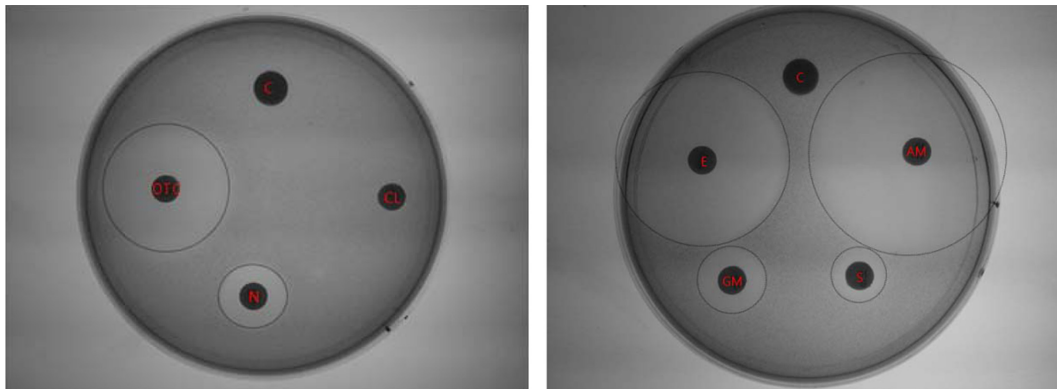


Fig. 3. Antibiotic susceptibility of *L. plantarum* FBT215(C: Control, E: Erythromycin, GM: Gentamycin, S: Streptomycin, AM: Ampicillin, OTC: Oxytetracycline, N: Neomycin, CL: Colistin).

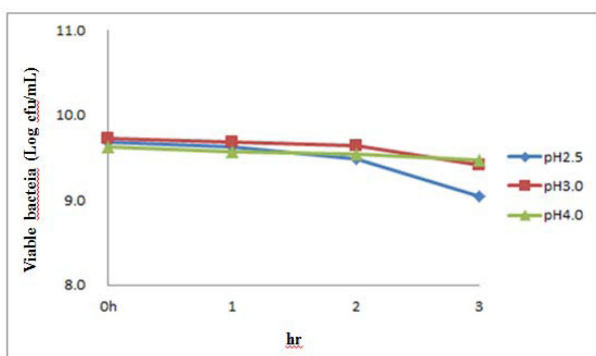


Fig. 4. Comparison of survival of *L. plantarum* FBT215 cell in the Simulated gastric juice adjusted to pH 2.5, 3.0, 4.0 with a 1N hydrochloric acid.

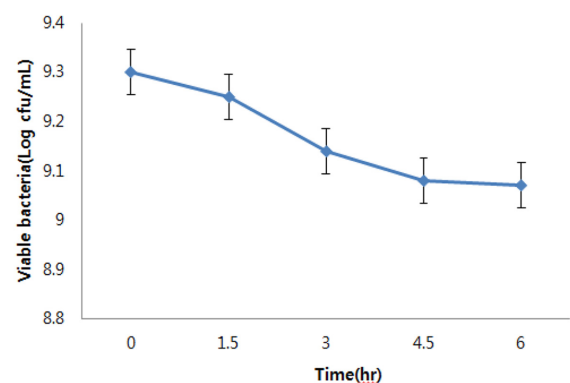


Fig. 5. Viability of *L. plantarum* FBT215 cells in oxgall solution (0.3% w/v).

균수가 줄어들긴 했으나 대체적으로 산성에 잘 견디는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 내담즙성을 확인하기 위하여 인공위액에 2시간 동안 처리하고 0.3%의 oxgall을 첨가한 MRS broth로 배지를 교체하였다. FBT215주는 담즙이 들어간 배지에서 3시간 정도 배양하였을 때, 96% 정도 생존

율을 보였으며 그 후로 담즙의 영향을 받아 생존수의 생존률이 90%까지 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 5).

BSH 활성

분리주 FBT215를 0.5%(w/v) taurodeoxycholic acid(TDCA)



Fig. 6. Plate assay for the detection of BSH activity of *L. plantarum* FBT215 on MRS agar containing 0.5% (w/v) taurodeoxycholic acid and 0.035% (w/v) CaCl_2 .

Table 1. Carbohydrate fermentation patterns of the FBT215

Carbohydrates	FBT 215	Carbohydrates	FBT 215
Control	-	Esculin	+
Glycerol	-	Salicin	+
Erythritol	-	Cellobiose	+
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	+
Ribose	+	Melibiose	+
D-Xylose	-	Sucrose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inulin	-
β -Methyl-D-xylose	-	Melezitose	+
Galactose	+	Raffinose	-
Glucose	+	Starch	-
Fructose	+	Glycogen	-
Mannose	+	Xylitol	-
Sorbose	-	Gentibiose	+
Rhamnose	-	D-Turanose	+
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
Mannitol	+	D-Fucose	-
Sorbitol	+	L-Fucose	-
α -Methyl-D-mannoside	-	D-Arabitol	-
α -Methyl-D-glucoside	-	L-Arabitol	-
N-Aetyl-glucosamine	+	Gluconate	+
Amygdalin	+	2-Keto-gluconate	-
Arbutin	+	5-Keto-gluconate	-

+, positive; -, negative

와 0.035%(w/v) CaCl_2 를 첨가한 MRS agar에 streaking한 결과는 Fig. 6과 같다. FBT215의 colony 주변에 불투명한 환이 생성된 것으로 보아, 담즙 분해효소가 있는 것으로 확인되었다.

젖산균 분리주의 동정

면역활성을 확인한 분리주 FBT215를 동정하기 위하여 API 50 CH Kit를 사용하였다. FBT215주를 MRS 배지 상에 자란 colony를 취하여 API CHL medium에 잘 희석하여 strip에 넣고 48시간 동안 37°C incubator에 배양하였다. 당 이용성을 조사한 결과 L-arabinose, ribose, galactose, glucose, fructose, mannose, mannitol, sorbitol, N-acetyl-glucosamine, amygdalin, arbutin, esculin, salicin, cellobiose, maltose, lactose, melibiose, sucrose, trehalose, melezitose, gentiobiose, D-turanose, gluconate 등의 당을 이용하였다 (Table 1). 염기서열의 상동성 검사는 GenBank database의 정보를 대상으로 National Center for Biotechnology Information(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)의 BLAST에 의해 실행하였다. 그 결과 *Lactobacillus plantarum* KCC-3과 98% (1423/1450) 일치하였다(data not shown).

고 찰

젖산균은 농산물부터 식품까지 사람이나 동물의 몸까지 널리 분포하고 있고 숙주의 장내에서 공생하면서 선천성 면역반응과 후천성 면역반응을 조절하며, 이러한 면역조절은 장내에 국한된 것이 아니라 전신성 면역반응에 영향을 미칠 수 있다(Yoon *et al.*, 2013). 실제로 마우스에 *L. plantarum*을 경구투여 함으로써 *L. plantarum*이 면역활성을 촉진한다는 보고가 발표된 바 있다(Chae *et al.*, 1998). 분리주 FBT215의 내산성을 측정하고자 산성용액(pH 2.5~4.0)에 노출하고 경과한 시간별로 생존수의 변화를 측정한 결과 생존수가 감소하였으나 비교적 산성에 잘 견디는 것을 확인하였다. 심(Sim *et al.*, 1995)의 연구에서도 *L. plantarum*이 산성 환경에 내성이 있음을 보고한 바 있다. 담즙성에 대한 내성은 프로바이오틱 젖산균이 갖춰야 하는 바람직한 성능 중 하나로, 통상적으로 BSH 활성 유무를 측정한다. BSH는 결합형 bile salt를 분해시키는 효소이다. 결합형 bile salt는 식이지방의 유화와 마이셀 형성에 있어서 비결합 분자보다 더 효율적이다. 따라서 젖산균이 생성하는 BSH는 bile salt를 분해함으로써 지질이 체내로 흡수되는 것을 방해한다. 본 연구에서 분리주 FBT215가 인공담즙 중에서 3시간 노출하였을 때 96% 정도 생존하는 것을 확인하였으나 그 이상은 담즙의 공격을 받아 증식이 감소하였다. 서등(Seo and Lee, 2007)의 연구에서도 *L. plantarum*은 담즙의 영향을 받지만, 실제 소장을 통과할 때에 많은 균이 대장에 도착할 수 있다고 주장하고 있다. 젖산균 중에서 특히 lactobacilli는 그람 양성 간균으로 비 병원성이며 대식 세포와 같은 면역세포의 활성을 유도하여 숙주의 면역력을 증대시켜준다고 알려져 있다(Seo and Lee, 2007). 본 연구에서는 분리주 FBT215의 면역활성능을 확인하였으나, 이

면역활성의 작용기구 등을 이해하기 위해서는 추가실험이 필요하다. *L. plantarum*을 아토피 동물 모델을 대상으로 4주 동안 경구 투여한 결과 IgE, IL-4, IL-5를 각각 감소시키는 것으로 나타났다(Lee *et al.*, 2008). 그 외에도 *L. plantarum*을 섭취하였을 때 설사 예방효과가 나타났다는 보고도 있다(Philippe *et al.*, 2012). 젖산균이 프로바이오틱 균주로 사용되기 위해서는 항생제 내성이 없는 균주가 바람직하다. 그 이유는 항생제 내성인자가 장내에서 타 세균으로 전달될 수 있는 가능성이 있기 때문이다(Jeong *et al.*, 2009). 본 연구에서 7종의 항생제(ampicillin, streptomycin, gentamycin, erythromycin, oxytetracycline, neomycin, colistin) 감수성 시험을 실시하였고 colistin을 제외한 모든 약제에 대하여 감수성이 큰 것을 확인하였다. 한편 양 등(Yang *et al.*, 2002)은 김치에서 분리한 *L. plantarum*이 유해 곰팡이에 대한 항진균 활성 및 식중독 균 등 유해 미생물의 증식을 저해하는 항미생물의 활성을 가지고 있다고 보고하였으나 본 분리주 FBT215주는 항진균 효과를 나타내지 못하였다(data not shown). 본 연구의 주요 결과와 기존의 연구결과들을 비교하였을 때 본 FBT215주는 기존 *L. plantarum* 주와 생화학적 특성이 유사하였으나 특별히 면역활성을 보유하고 있다는 점이 매우 흥미롭게 생각되었다. 따라서 기존에 보고된 젖산균의 항암효과가 면역활성능과 깊은 관련성이 있을 것으로 추측되었다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 IPET 연구과제(번호 111141-2)의 일부로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

요 약

김치에서 *Weissella*속, *Leuconostoc*속, *Lactobacillus*속 등의 154주의 젖산균을 분리할 수 있었다. 분리한 24주의 젖산균을 시료화하여 RAW264.7 cell의 세포 생존률을 기준으로 선별된 24주의 젖산균의 면역활성능을 확인한 결과 IL-1 α 는 FBT215주가 676.9 \pm 22.2 pg/mL로, TNF- α 는 FBT202주가 1105.3 \pm 30.5 pg/mL로 가장 많이 분비량이 높았다. 종합적으로 확인하였을 때 FBT215가 cytokine 분비를 촉진하였다. 또, 내산성을 확인하기 위해 인공 위액에서 배양한 결과 대체적으로 산성에 잘 견디는 것을 알 수 있었고, 내담즙성을 확인하기 위하여 oxgall을 첨가한 배지에 FBT215주를 접종한 후 3시간까지는 증식을 하였으나, 그 뒤는 담즙으로 인하여 생존수가 감소하는 것을 확인했다. BSH 활성을 통해 FBT215주는 BSH 활성이 양성으로 나타났으므로 담즙 분해 효소가 있는 것을 확인할 수 있었다. API 50 CH kit와 16S rRNA sequencing을 통하여 FBT215를 동정한 결과 *Lactobacillus plantarum*임을 확인하였다.

참고문헌

- Huang Y, Wang X, Wang J, Wu F, Sui Y, Yang L, and Wang Z (2013) *Lactobacillus plantarum* strain as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. *J. Dairy Sci.* **96**, 2746-2753.
- Kumar M, Kumar A, Nagpal R, Mohania D, Behare P, Verma V, Kumar P, Poddar D, Aggarwal PK, Henry CJ, Jain S, and Yadav H (2010) Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *Int. J. Food. Sci. Nutr.* **61**, 473-496.
- Saltzman JR, Russell RM, Golner B, Barakat S, Dallal GE, and Goldin BR (1999) A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance. *Am J Clin Nutr.* **69**, 140-146.
- Blum S, Haller D, Pfeifer A, and Schiffrin EJ (2002) Probiotics and immune response. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **22**, 287-309.
- Perdigón G, Fuller R, and Raya R (2001) Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Cur. Iss. Interst. Microbiol.* **2**, 27-42.
- Czarniecki CW (1993) The role of tumor necrosis factor in viral disease. *Antiviral Res.* **22**, 223-258.
- Gill HS (1998) Stimulation of the immune system by lactic cultures. *Int. Dairy J.* **8**, 535-544.
- Yu KW, Suh HJ, and Hwang JH (2012) Fermentative properties and immunomodulating Activity of low-sodium kimchi supplemented with *Acanthopanax senticosus* and *Glycyrrhizae uralensis* Extracts. *Korean J. Food & Nutr.* **25**, 878-887.
- Bettache G, Fatma A, Miloud H, and Mebrouk K (2012) Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan. a traditional butter and their major technological traits. *World Applied Sciences Journal.* **17**, 480-488.
- Liasi SA, Azmi TI, Hassan MD, Shuhaimi M, Rosfarizan M, and Ariff AB (2009) Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolate of lactic acid bacteria from fermented fish product. *Budu. Malaysian J. Microbiol.* **5**, 33-37.
- Kim ID and Ha BJ (2009) Paeoniflorin protects RAW 264.7 macrophages from LPS-induced cytotoxicity and genotoxicity. *Toxicol In Vitro.* **23**, 1014-1019.
- Dashkevicz MP and Feighner SD (1989) Development of a differential medium for 427 bile salt hydrolase-active *Lactobacillus* spp. *Appl Environ Microbiol.* **55**, 11-16.
- Yoon SS, Park YS, and Choi HJ (2013) Genetics and research revolutions in the lactic acid bacteria: focused on probiotics and immunomodulation. *Curr. Top. LAB Probio.* **1**, 9-19.
- Chae OW, Shin KS, Chung HW, and Choe TB (1998) Immunostimulation effects of mice fed with cell lysate of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. *Korean J. Biotechnol.* **13**, 424-430.
- Sim JH, Oh SJ, Kim SK, and Baek YJ (1995) Comparative tests on the acid tolerance of some lactic-acid-bacteria species Isolated from lactic fermented products. *Korean J. Food SCI. Technol.* **27**, 101-104.
- Seo JH and Lee H (2007) Characteristics and immunomodulating activity of lactic acid bacteria for the potential probiotics. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**, 681-687.

- Choi HJ, Kim JY, Shin MS, Lee SM, and Lee WK (2011) Immuno-enhancing effects of *Lactobacillus salivarius* JWS 58 and *Lactobacillus plantarum* JWS 1354 isolated from duck. *Korean J. Vet. Res.* **51**, 281-288.
- Lee IH, Lee SH, Lee IS, Park YK, Chung DK, and Ryowon C (2008) Effects of probiotic extracts of kimchi on immune function in NC/Nga Mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 82-87.
- Philippe D, Prabha S, and Venkataraman J (2012) Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v(DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome. *World J. Gastroenterol.* **18**, 4012-4018.
- Yang EJ, Chang JY, Lee HJ, Kim JH, Chung DK, Lee JH, and Chang HC (2002) Characterization of the antagonistic activity against *Lactobacillus plantarum* and induction of bacteriocin production. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 311-318.
- Kim HJ (2004) Antitumor effects and immune activity by cell wall extract of lactic acid bacteria. Masters Degree, Sungkyunkwan university, Korea.
- Gilliland SE, Staley TE, and Bush LJ (1984) Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* **67**, 3045-3051.
- Jin LZ (1998) Acid and bile tolerance of *Lactobacillus* isolated from chicken intestine. *Lett. in Appl Microbiol.* **27**, 183-185.
- Jeong MY, Park YH, Kim HS, Bu HR, and YH Jang (2009) Probiotic Property of *Lactobacillus pentosus* Miny-148 isolated from human feces. *Kor J. Microbiol.* **45**, 177-184.