

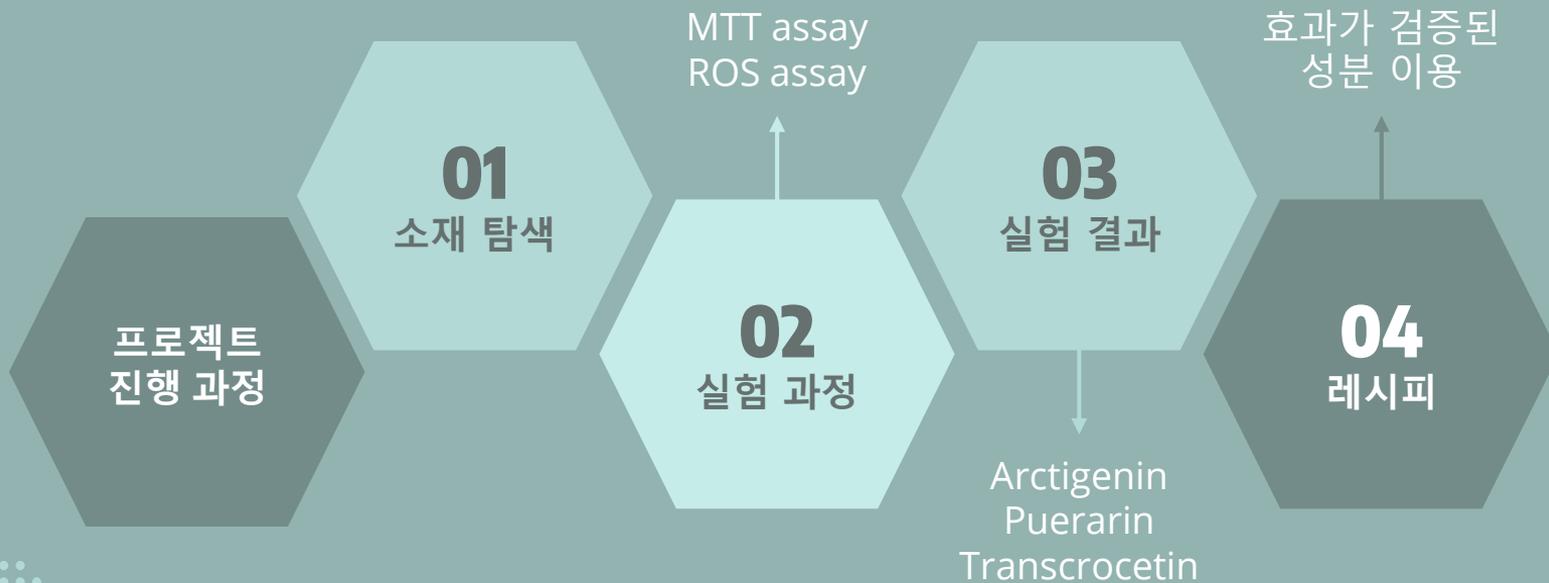
바이오식의약 소재의 기능 및 이용 연구

담당교수: 임화선 교수님

담당조교: 이민경 조교님

조원: 김하진, 안하정, 우현주, 이수원, 이정빈

목차



진행 과정

1. 피부세포 염증 완화에 효과가 있는 식의약소재 탐색
2. 식의약 소재를 사용한 피부세포 실험
3. 피부세포 염증 완화가 효과가 있는 소재를 사용한 레시피 개발

소재 탐색

식품	약용 식물	해조류	광물
<ul style="list-style-type: none"> ▶ 참 - 푸에라린 ▶ 우방자 - 악티게닌 ▶ 베리류 - 안토시아닌 ▶ 치자 - 크로세틴 ▶ 케일 - 퀘르세틴, 베타카로틴 ▶ 금어초 - 플라보노이드 화합물 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 카모마일 - 크로세틴, 플라보노이드 ▶ 금어초 - 안토시아닌, 리놀레산, 올레인산 ▶ 연꽃 - 플라보노이드, 레그헤모글로빈 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 감태 - 플로로탄닌 ▶ 라미나리아 디지타타 - 베타인 ▶ 볼복스 카르테리 - 리폭시게니아 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 황 ▶ 명반 ▶ 밀타승 ▶ 응황 ▶ 카올린

실험을 통해 '피부세포 염증완화효과' 를 관찰하는 것이 가능하고,
 '관련 연구가 비교적 많이 진행되지 않은' 성분 선택

실험 소개

▶ 실험 목적: HaCaT cell에 H_2O_2 를 사용하여 활성산소를 발생시킨 후 Artigenin, Puerarin, Crocetin이 피부세포의 스트레스를 완화시키는지 확인

- 사용한 세포: HaCaT cell – 각질 형성 세포 / 면역 조절, 염증유도물질 생성
- 활성 산소(ROS) : 각질 세포에 산화적 스트레스를 초래하여 여러 피부질환 유발

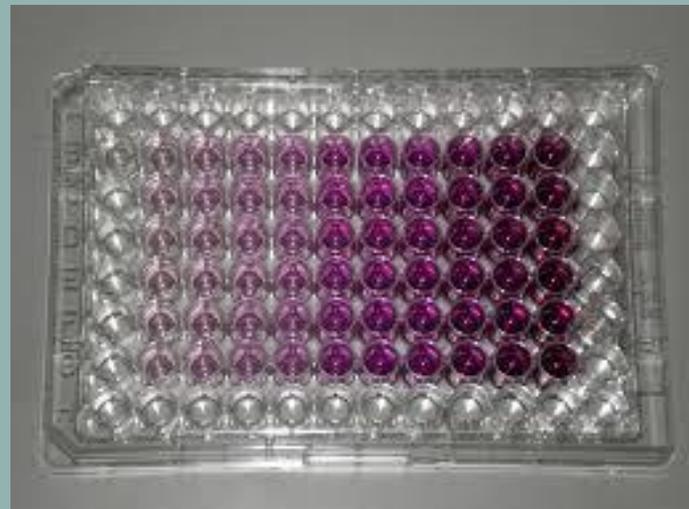
▶ 결과 확인 방법: **MTT assay**를 통해 약물이 세포 사멸을 완화시키는지 확인하고, 그 기전이 ROS 감소를 원인으로 하는지 알아보기 위해 **ROS assay** 진행

MTT assay

MTT assay

: 살아있는 세포의 능력을 이용하여 세포의 사멸 변화 관찰
노란색의 tetrazolium salt가 미토콘드리아의 환원 능력에 의해
보라색의 formazan을 형성
(세포가 많이 살아있을수록 진한 보라색을 띠م)

→ 흡광도를 측정하여 세포의 사멸 정도 측정



ROS assay

ROS assay

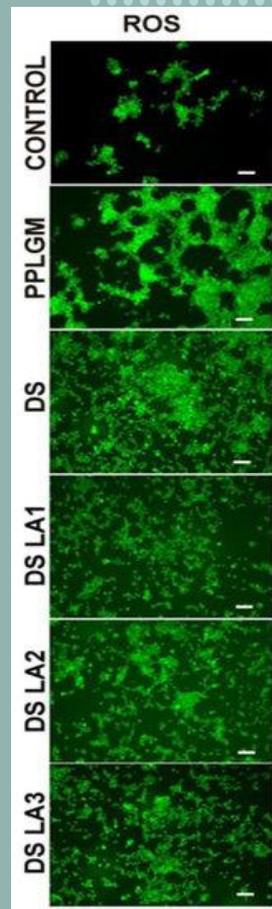
: ROS(reactive oxygen species)가 유발된 정도를 통해 세포의 스트레스 정도 확인

DCFH-DA 시약이 활성 산소와 만나서 녹색 형광을 띠는 물질인 DCF로 변하는 원리
(DCF의 생성도) = (ROS의 생성량)

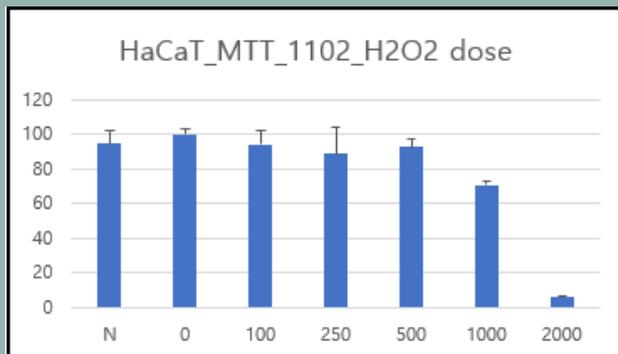
→ 유세포분석기로 녹색 형광도 측정



유세포 분석기



실험 과정

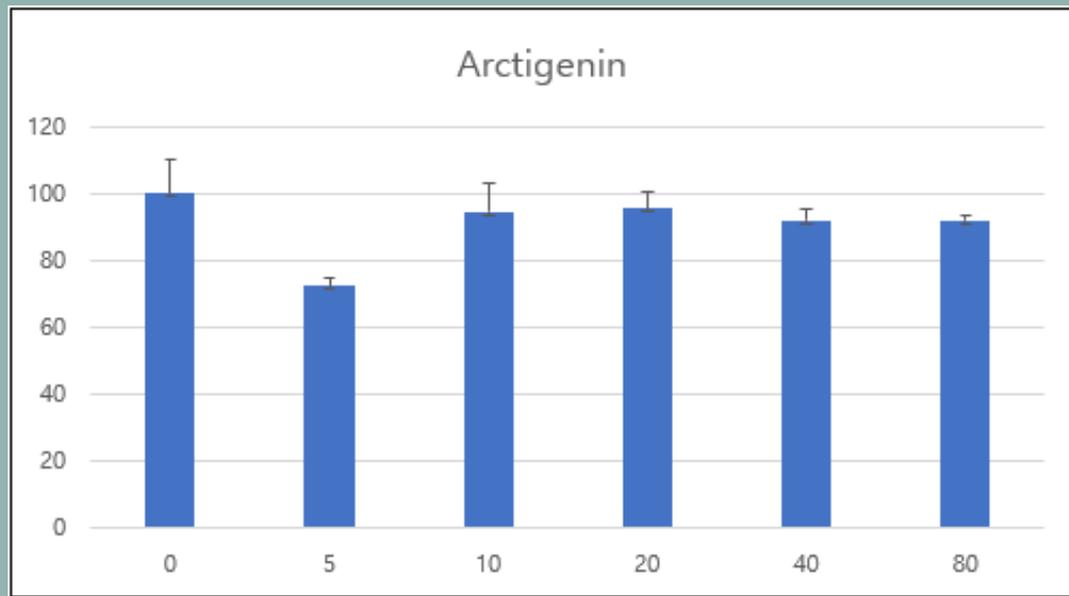


<<최적의 조건을 찾기 위한 예비 실험>>

HaCaT cell에 H₂O₂ 1mM, 1.5mM 처리
(1mM부터 세포 사멸, 2mM은 사멸 심각)

X축: H₂O₂ 농도(μ M)
Y축: 빛의 세기(%) = 세포의 생존력

Arctigenin – MTT assay



X축 : Arctigenin 처리 농도(uM)

Y축 : 빛의 세기(%)

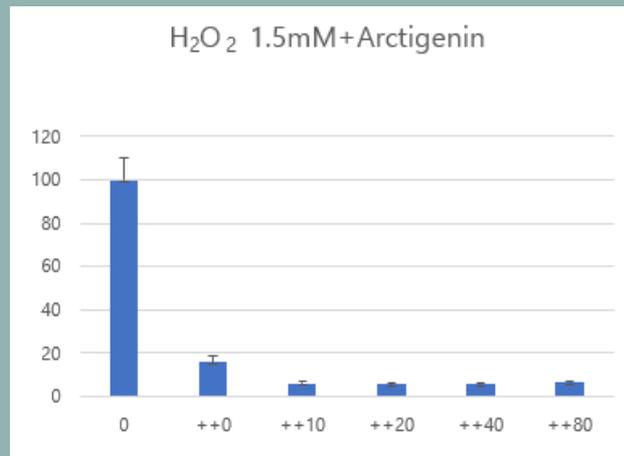
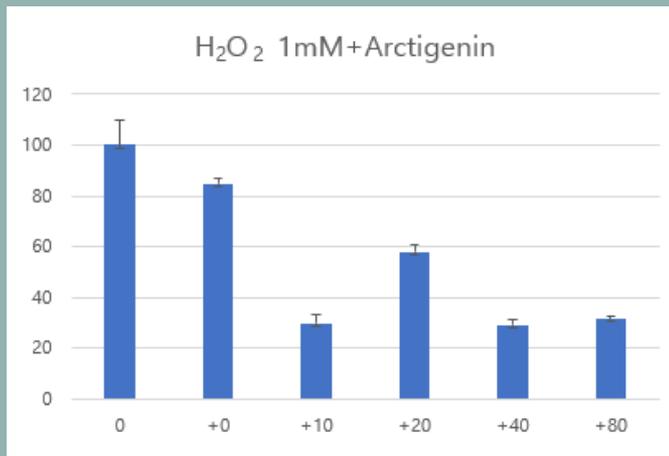
: 0을 기준으로 %로 나타냄

= 세포의 생존력

HaCaT cell에 Arctigenin만 농도별로 처리
→ Arctigenin에 의해 세포가 죽지 않는다는 결과 확인

Arctigenin – MTT assay

HaCaT cell에 과산화수소 1mM/1.5mM + Arctigenin 농도별로 처리



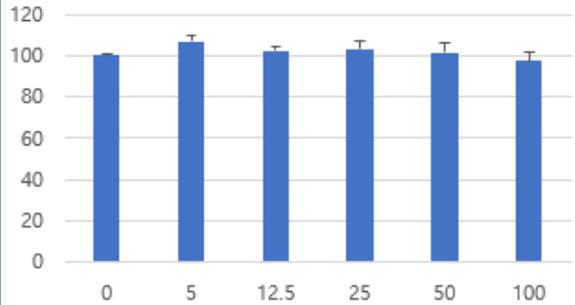
X축 : H₂O₂ 1mM(+표시) /
1.5mM(++표시),
Arctigenin 농도(μM)

Y축 : 빛의 세기(%)
= 세포 생존률

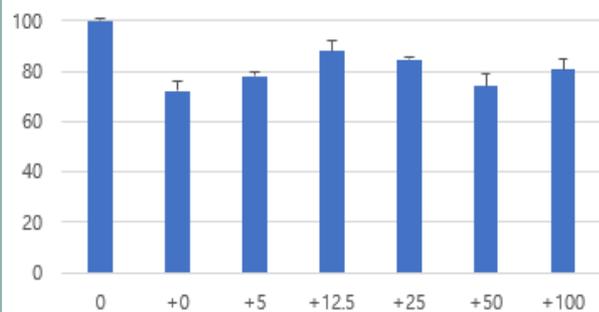
H₂O₂만 넣었을 때보다 Arctigenin을 첨가했을 때 생존율이 낮아짐
∴ Arctigenin은 세포 손상을 완화시킬 수 없음 (ROS assay 진행 X)

Puerarin – MTT assay

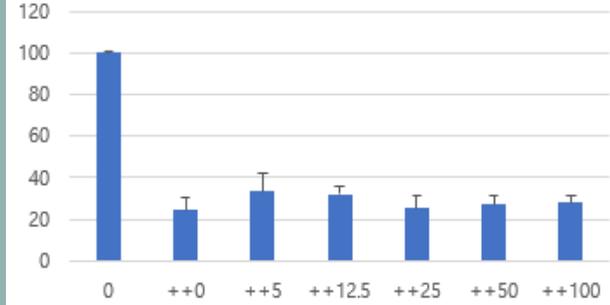
Puerarin dose



HaCaT cell에 Puerarin만
농도별로 처리
→ Puerarin에 의해 세포가
죽지 않는다는 결과 확인

 H_2O_2 1mM+Puerarin dose

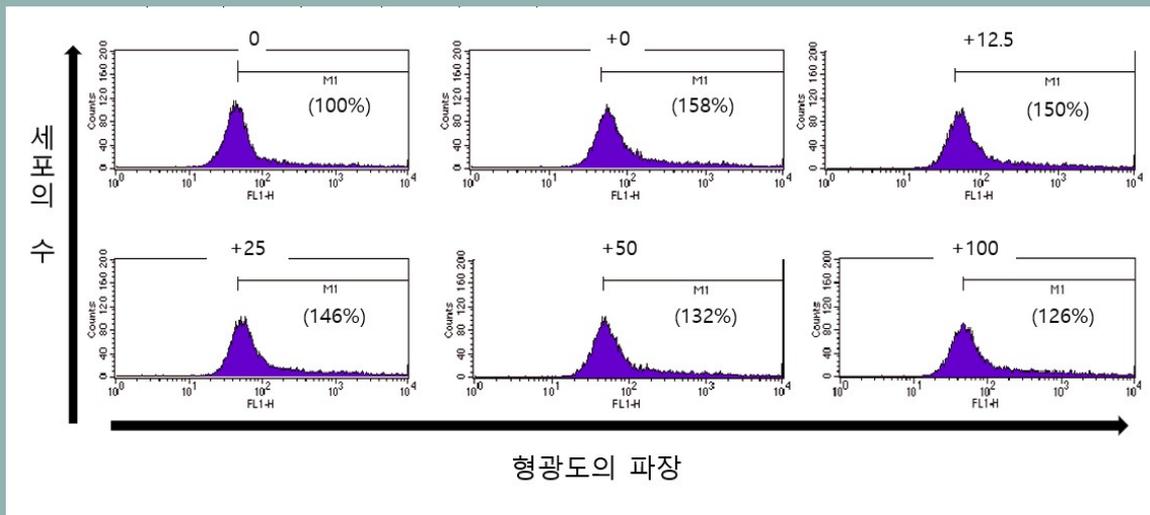
H_2O_2 만 처리한 그룹에 비해
Puerarin을 처리한 그룹의
세포 생존률이 더 높다는 결과
확인

 H_2O_2 1.5mM+Puerarin dose

H_2O_2 만 처리한 그룹에 비해
Puerarin을 처리한 그룹의 세포
생존률이 높다는 결과 확인
(그러나 1.5mM에서는 세포의
사멸율이 너무 높아서 회복율이
적음)

∴ Puerarin은 세포의 스트레스 완화에 효과가 있음

Puerarin – ROS assay



M bar

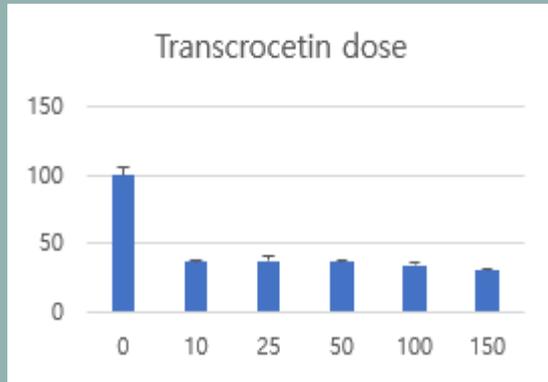
: 아무것도 처리하지 않았을 때 세포의 수가 가장 많은 파장부터 파장이 가장 큰 부분까지 나타낸 것 - 이 안에 속한 세포 수를 100%라고 가정

→ M bar에 속한 세포 수 적을수록 ROS 유발 정도가 낮음

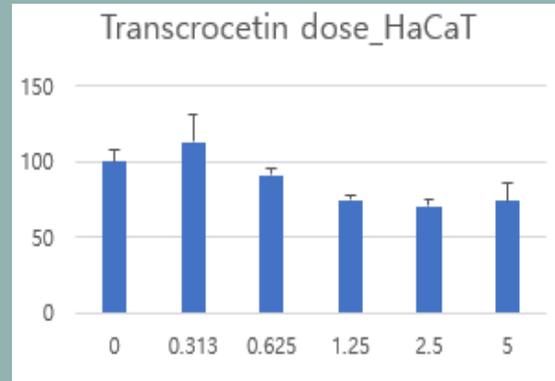
- 파장이 높을수록 형광도 높음 = ROS 유발 정도 높음
- Puerarin의 농도 진해질수록 M bar에 속한 세포 수의 퍼센트가 낮아짐 = 낮은 파장에서 형광도를 나타내는 세포가 많아짐

∴ Puerarin으로 인해 과산화수소에 의한 산화적 스트레스가 완화됨

Transcrocetin – MTT assay



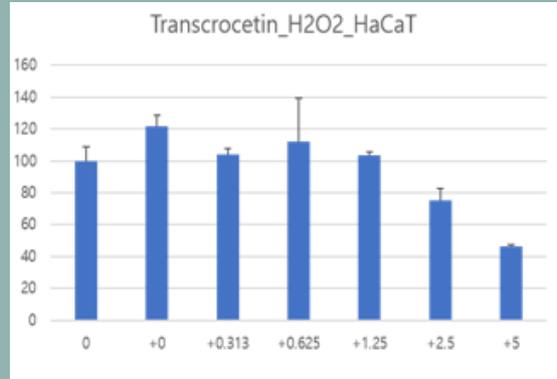
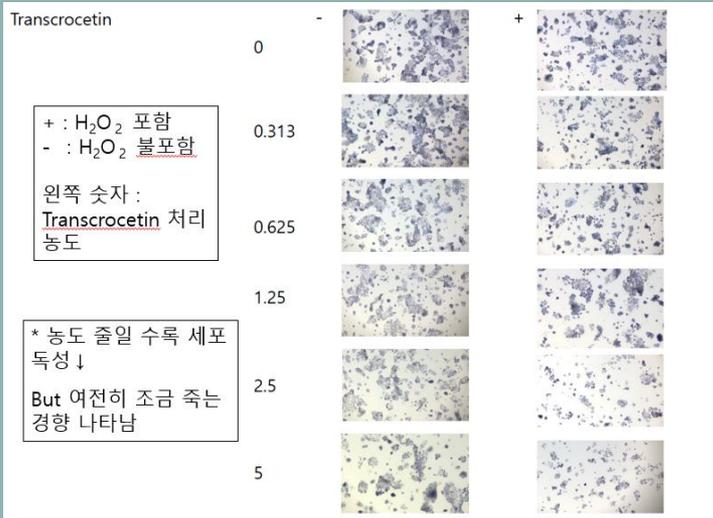
농도 ↓



이전의 다른 약물들과 비교했을 때 세포가 죽는 경향이 나타남

∴ Transcrocetin은 세포 독성이 있음

Transcrocetin – MTT assay



Transcrocetin의 농도를 낮추고 과산화수소와 병행처리한 결과

-Transcrocetin이 세포 사멸을 완화시키지 못함

-과산화수소가 이전의 실험과 같이 HaCaT cell에 영향을 잘 미치지 못함 (Plate에 세포가 고르게 seeding되지 않았거나 과산화수소의 활성이 떨어진 것이 원인으로 추정)

효과가 검증된 성분을 이용한 레시피 개발

▶ 기존 계획

- ▶ 'Artigenin이 함유된 우방자'와 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 국수를 만든다.
- ▶ 'Crocetin이 함유된 치자황색소'를 사용하여 빨간색 쿠키를 3D Food Printer, Foodini를 이용하여 만든다.

Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 쿠키, 초콜릿 만들기



Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'을 이용하여 쿠키 만들기

재료

박력분 250g, 무염 버터 100g, 스테비아 설탕 30g, 소금 2g, 베이킹파우더 2g,
계란 1개, 갈근 20g(약 4스푼)



맛

- 끝맛이 약간 쓴 것 외엔 일반 버터쿠키와 비슷했다.
- 갈근을 곱게 갈지 않아 질긴 것이 씹히기도 했다.

Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'과 FOODNIN를 이용하여 초콜릿 만들기

재료

중탕한 초콜릿(100g) + 갈근가루(10g 약 2스푼)

과정

- ▷ FOODINI를 구동시킬 수 있는 농도를 맞추기 위해 중탕한 초콜릿 100g에 갈근을 한 번에 넣지 않고 여러 번 나눠서 총 10g 첨가
- ▷ 노즐 40으로 FOODINI를 구동시켜 별 모양 초콜릿을 만듦.



Puerarin을 사용한 레시피 개발



맛

쿠키와 다르게 초콜릿의 단맛이 쓴맛을 잘 잡아주어 일반 초콜릿과 같은 맛이 났다.

Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기

재료

박력분 100g, 무염 버터 20g, 스테비아 설탕 5g, 소금 2g, 우유 100g + 갈근가루 15g(약 3스푼)

과정

- ▷ FOODINI를 구동시킬 수 있는 농도를 맞추기 위해 핫케이크 반죽에 갈근을 한 번에 넣지 않고 여러 번 나눠서 총 15g 첨가



Puerarin을 사용한 레시피 개발

- ▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기

결과

- ▷ 반죽의 농도가 너무 묽었고
노즐 앞부분의 핫케이크 반죽이 공기와 닿으면 굳어서
FOODINI를 사용하는 것이 불가능하다고 판단하여
숟가락으로 모양을 잡은 후 오븐에 구웠다.



Puerarin을 사용한 레시피 개발

▶ 'Puerarin이 함유된 갈근'으로 핫케이크 만들기



맛

- 매우 짙은 맛이 났다.
- 3D프린터 구동이 가능한 농도를 맞추기 위해 갈근가루를 많이 첨가했기 때문이다.



저희의 발표를 들어주셔서 감사합니다.

또한, 프로젝트에 도움 주신 많은 분들께 감사의
인사를 드립니다.

