



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0062140
(43) 공개일자 2010년06월10일

(51) Int. Cl.

A61K 31/737 (2006.01) *A61P 19/10* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0120587

(22) 출원일자 2008년12월01일

심사청구일자 2008년12월01일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산 남구 용당동 산 100번지 부경대학교내

(72) 발명자

김세권

부산광역시 동래구 사직2동 쌍용예가아파트 125동 1402호

조영숙

부산광역시 남구 대연6동 동진상가 아파트 106호

(74) 대리인

이덕록

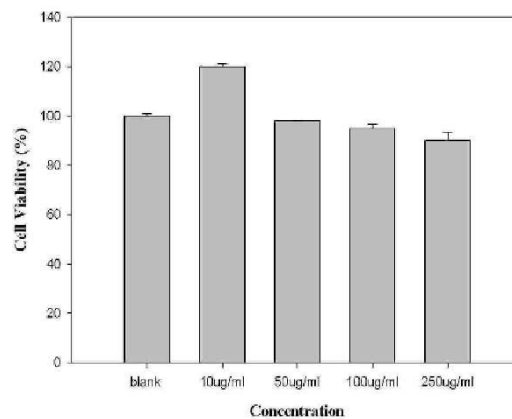
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 푸코이단을 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물

(57) 요약

본 발명은 푸코이단을 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 조성물은 푸코이단을 유효성분으로 함유하여 알칼리성 포스파타아제 활성 및 오스테오칼신 생산을 증가시키고, 골 형태형성 단백질(BMP-2)의 생산을 증강시키는 효과가 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물이 골 형성 촉진 및 활성을 통해 골다공증 및 골절 질환을 예방 및 치료하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 건강기능식품.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 건강기능식품이 골 형성 촉진 및 활성을 통해 골다공증 및 골절 질환을 예방하는 것을 특징으로 하는 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 푸코이단을 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 푸코이단을 유효성분으로 함유하여 알칼리성 포스파타아제 활성 및 오스테오칼신 생산을 증가시키고, 골 형태형성 단백질(BMP-2)의 생산을 증강시키는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 골다공증은 골 흡수와 골 형성 사이의 불균형으로 인해 골격 질량이 감소되는 것인 반면, 골 항상성에는 골아세포와 파골세포 사이의 균형잡힌 상호작용을 필요로 한다(Ducy et al., 2000; Teitelbaum, 2000). 골 건강을 위한 종래의 약물 및 기능성 식품에는 비스포스포네이트, 칼시토닌, 에스트로겐, 비타민 D 유사체, 이프리플라본 및 이소플라본이 포함된다. 이들은 모두 골 흡수 저해제로서, 파골세포의 작용을 억제함으로써 골 질량을 유지시킨다(Rodan and Martin, 2000). 따라서 새로운 골 형성을 촉진시킬 수 있고 정착된 골다공증의 특징인 피질 마이크로아키텍처(trabecular microarchitecture)의 불균형을 바로잡는 만족할만한 골-형성제(동화제)를 보유하는 것이 바람직하다 (Berg et al., 2003 and Ducy et al., 2000).

[0003] 새로운 골 형성이 주로 골아세포의 기능이기 때문에, 골형성을 조절하는 작용제는 골아세포 계통의 세포 증식을 증가시키거나 또는 골아세포의 분화를 유도함으로써 작용한다(Ducy et al., 2000). 최근의 연구들은 각각 골아세포성 세포 분화 및 골 재생에 대한 설페이트화 다당류(sulfated monosaccharide; SGlc) 및 다당류(polysaccharide; 음이온성 PEC)의 유익한 효과를 제시한 바 있다 (Kim et al., 2007; Naghata et al., 2005).

[0004] 갈조류들은 다양한 다당류, 즉 알지네이트, 라미난 및 푸코이단을 생성한다고 알려져 있다(Painter, 1983; Percival, 1967). 이들 다당류들 중, 푸코이단은 주로 대한민국, 중국, 일본 등의 동아시아에서 상업용 해조류에서 이용되는 미역(*U. pinnatifida*), 참다시마(*L. japonica*)에서 추출되고 있다. 설페이트화 다당류인 푸코이단은 다량의 L-푸코오스 및 설페이트와 더불어 미량의 다른 당류, 예를 들어, 자일로오스, 갈락토오스, 만노오스 및 글루쿠론산을 함유한다(Duarte et al., 2001; Percival, 1967). 최근 들어, 이들의 항산화, 항응혈, 항

혈전, 항염증, 항종양 및 항바이러스 생리 활성이 보고된 바 있다(Chevolot et al., 2001; Cumashi et al., 2007; Mourao, 2004; Itoh et al., 1993; Maruyama et al., 2006; Thompson and Dragar, 2004). 그러나 지금까지 골 건강 및 형성에 대한 푸코이단의 유익한 효과에 대해서는 보고된 바 없다.

[0005] 따라서 본 발명자들은 상기와 같은 종래의 연구 결과들로부터 착안하여 골아세포 MG-63 세포 분화에 대한 푸코이단의 효과를 밝혀내고, 특히 미역 유래 푸코이단이 각각 초기 단계 및 말기 단계 분화에 대한 표현마커(phenotypic marker)인 알칼리성 포스파타아제(alkaline phosphatase; ALP)의 활성 및 오스테오칼신(osteocalcin; OC)의 수준을 증진시킬 수 있다는 사실을 연구하고, 골 형성, 리모델링 및 무기화에 대한 중요한 인자인 골 형태형성 단백질-2(bone morphogenic protein-2; BMP-2)의 양성 효과를 연구한 결과 푸코이단의 골아세포 분화에 있어서의 통찰 및 골 건강 보충제로서의 응용 가능성을 찾아내고 본 발명에 이르게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 따라서 본 발명의 목적은 골 형성 촉진제로서 푸코이단의 신규한 용도를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명의 다른 목적은 푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 또한 본 발명의 다른 목적은 푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0009] 상기와 같은 본 발명의 목적은 미역 유래 푸코이단을 이용하여 인체 골육종 세포주 MG-63를 처리하고, 이들의 세포생존력 분석, 알칼리성 포스파타아제(ALP) 활성 분석, 무기화 분석, 오스테오칼신 및 BMP-2 수준 분석 및 RT-PCR 분석을 통해 푸코이단이 알칼리성 포스파타아제 활성 및 오스테오칼신 생산을 증가시키고, 골 형태형성 단백질(BMP-2)의 생산을 증강함을 확인함으로써 달성되었다.

[0010] 본 발명은 푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 약학 조성물을 제공한다.

[0011] 상기 본 발명의 푸코이단 함유 조성물은 골 형성 촉진 및 활성을 통해 골다공증 및 골절 등 골 형성과 관련된 질환을 예방 및 치료할 수 있다.

[0012] 본 발명에 있어서, “유효성분”이라 함은 내재된 약리작용에 의해 그 의약품의 효능·효과를 직접 또는 간접적으로 발현한다고 기대되는 물질 또는 물질군(약리학적 활성성분등이 밝혀지지 않은 생약 등을 포함한다)으로서 주성분을 포함하는 것을 의미한다.

[0013] 본 발명의 푸코이단을 함유하는 약학조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 조성물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명은 푸코이단을 유효성분으로 함유하는 골 형성 촉진 및 활성용 건강기능식품을 제공한다.

[0016] 본원에서 정의되는 “건강기능식품”은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, “기능성”이라 함은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0017] 본 발명의 골 형성 촉진 및 활성용 건강기능식품은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.01 내지 95 %, 바람직하게는 1 내지 80 % 중량백분율로 포함한다.

[0018] 또한, 골 형성 촉진 및 활성을 위한 목적으로 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태인 건강기능식품으로 제조 및 가공이 가능하다.

[0019] 본 발명에 따르면, 푸코이단의 존재가 다양한 단계의 골형성성 분화에서 알칼리성 포스포타아제 활성 및 오스테오칼신 생산의 유의적인 증가를 가져온다. 또한, 푸코이단은 골 형태형성 단백질(BMP-2)의 활성화와 관련이 있는 골 무기화를 촉진시킬 수 있다. 본 발명에 따르면, 푸코이단의 존재가 초기 단계의 골형성성 분화를 촉진시키기 때문에, 본 발명은 푸코이단의 골형성성 분화에 있어 새로운 통찰과 골 건강 보충제에 응용가능성을 제공할 수 있다.

효 과

[0020] 상기한 바와 같이 본 발명에 따른 푸코이단을 함유하는 골 형성용 약학 조성물은 푸코이단을 유효성분으로 함유하여 알칼리성 포스포타아제 활성 및 오스테오칼신 생산을 증가시키고, 골 형태형성 단백질(BMP-2)의 생산을 증강시키는 효과가 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0021] 이하에서 본 발명의 바람직한 실시형태를 실시예를 참고로 보다 구체적으로 설명한다. 하지만 본 발명의 범위가 이러한 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0022] 실시예

[0023] 갈조류 미역(*Undaria pinnatifida*)에서 추출된 푸코이단(총 다당류 : 62.12% 및 황산염 : 34.20%)을 해원 바이오텍사(HAEWON BIOTECH Inc.; Seoul, Korea)에서 구입하였다. 우태아혈청(fetal bovine serum; FBS), MEM 배지(minimal essential medium), 페니실린 G, 및 스트렙토마이신은 킵코-비알엘(GIBCO-BRL; Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. BMP-2 ELISA 키트는 알&디 시스템스(R&D Systems; Minneapolis, MN, USA)에서 입수하였다. 오스테오칼신 ELISA 키트는 타카라(Takara; Tokyo, Japan)에서 구입하고, p-니트로페닐 포스페이트 및 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]는 시그마(Sigma; St. Louis, MO)에서 구입하였다. RT-PCR 시약들은 프로메가(Promega; Madison, WI, USA)에서 구입하였다.

[0024] 모든 데이터는 평균±S.D.로 나타내었다. 결과들의 통계적 비교는 분산 분석법(analysis of variance; ANOVA)을 이용하였다. 대조군과 시험군의 평균 간의 유의적 차이(P<0.05)를 두넛트 시험(Dunnett's test)으로 분석하였다.

[0025] 실시예 1 : 세포 배양

[0026] 인체 골육종 세포주 MG-63 (CRL-1427)을 ATCC(American Tissue Culture Collection)에서 입수하였다. MG-63 세포를 10% 우태아혈청(FBS)와 항생제(페니실린 G 100 IU/mL 및 스트렙토마이신 100 µg/mL)이 보충된 MEM 배지에서 배양하였다.

[0027] 실시예 2 : 세포 생존력 분석

[0028] 포르마잔으로의 미토콘드리아-의존성 환원에 의해 측정된 세포 생존력의 지시자로서 MTT를 이용하였다. 간략하게, 세포를 파종한 후, 지정된 시간 간격으로 다양한 시약 처리하였다. 다양한 처리 후, 배지를 제거하고, 세포를 0.5 mg/mL MTT로 배양하였다. 37℃ 및 5% CO₂에서 3 시간 동안 배양한 후, 상청액을 제거하고, 마이크로플레이트 리더기를 이용하여 신호를 모니터링함으로써 포르마잔의 형성을 관찰하였다.

[0029] **실시예 3 : 알칼리성 포스파타아제(ALP) 활성 분석**

[0030] 세포를 96-웰 플레이트에 5×10^3 cells/well의 밀도로 파종하고, 24 시간 동안 배양하였다. 시험용 시약을 웰에 가하고, 2 일 동안 계속 배양하였다. 이어서 생리 식염수로 세포를 3 회 세척하고, 0.1% Triton X-100 함유 B [비신코닌산(bicinchoninic acid)] 단백질 분석 시약에서 37℃로 1시간 동안 배양하여 세포 단백질 농도를 측정하였다. 1 M NaOH를 가하여 반응을 중단시키고, 560 nm에서 흡수능을 측정하였다.

[0031] 세포를 생리 식염수로 3회 세척한 후, 0.1% Triton X-100, 1.5 mM $MgCl_2$ 및 15 mM p-니트로페닐 포스페이트를 함유한 pH 10의 0.1 M $NaHCO_3$ - Na_2CO_3 완충액 중에서 37℃로 1 시간 동안 배양하여 세포 활성을 측정함으로써 적절한 처리 기간 후 세포 중의 알칼리성 포스파타아제 활성을 분석하였다. 1M NaOH를 가하여 반응을 중단시킨 후, 405 nm에서의 흡수능을 측정하였다. 인산염 활성의 단위는 시간 당 1 μ m의 p-니트로페놀이 유리되는 효소 활성의 양으로 정의하였다(Eichner et al., 2002).

[0032] **실시예 4 : 무기화 분석**

[0033] 24-웰 플레이트에서 7일 처리 후 알리자린 레드(Alizarin Red; Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 염색을 이용하여 무기화도를 측정하였다. 간략하게, 세포를 70% (v/v) 에탄올로 1 시간 동안 고정한 후, 이온화수 (pH=4.2) 중 실온에서 1 시간 동안 40 mM 알리자린 레드 S로 염색하였다. 알리자린 레드 S 용액을 흡출시켜 제거한 후, 오비탈 로테이터(orbital rotator) 상에서 교반세포를 PBS 중에서 15 분 동안 실온으로 교반하였다. 이어서 세포를 신선한 PBS로 1회 세척하고, 10 mM 인산 소듐(pH=7.0) 중에서 10% (w/v) 세틸피리디늄 클로라이드로 15 분 동안 탈색시켰다. 추출된 균주를 96-웰 플레이트로 옮기고, 마이크로플레이트 리더기를 이용하여 562 nm에서의 흡수능을 측정하였다.

[0034] **실시예 5 : 오스테오칼신 및 BMP-2 수준 분석**

[0035] 오스테오칼신 및 BMP-2 ELISA 키트를 사용하여 각각 오스테오칼신 및 BMP-2 수준을 검출하였다. 간략하게, 세포를 다양한 농도의 푸코이단으로 처리하였다. 세포 배지를 수집하고, 각각 오스테오칼신 및 BMP-2를 측정하였다. 이들 시료를 모노클로날 검출 항체로 코팅된 96-웰 플레이트에 놓고, 실온에서 2 시간 동안 배양하였다. 미결합 물질을 세척용 완충액(50 mM Tris, 200 mM NaCl, 및 0.2% Tween 20)으로 세척한 후, 호스디쉬 퍼옥사이드 공액화된 스트렙토마이신을 가하여 항체에 결합시켰다. 호스디쉬 퍼옥사이드가 시료에 존재하는 단백질의 양에 대하여 착색 강도 비율로서 착색된 용액으로 발색성 기질(테트라메틸벤지딘)의 전환을 촉매화시켰다. 각 웰의 흡수능을 450 nm에서 측정하였다. 결과를 미처리 대조군 (Kuo et al., 2005)과 비교하여 활성 변화 %로서 나타내었다.

[0036] **실시예 6 : RT-PCR 분석**

[0037] RT-PCR을 이용하여 BMP-2 mRNA의 발현 수준을 조사하였다. 또한 내부 대조군으로서 GAPDH에 대한 RT-PCR을 수행하였다. TRIzol 시약으로 RNA를 분리하였다. 총 RNA의 분취액(2 μ g)을 AMV 역전사효소를 이용하여 cDNA로 역전사시켰다. PCR에 이용된 올리고뉴클레오타이드는 다음과 같았다: 인체 ALP mRNA에 대하여 5' - CCACGTCTTCACATTGGTG-3' (정방향 프라이머) 및 5' -AGACTGCGCCTAGTAGTTGT-3' (역방향 프라이머), 인체 BMP-2 mRNA에 대하여 5' -ATGTTTCGCTGAAACAGAGACCCA-3' (정방향 프라이머) 및 5' -CTTACAGCTGGACTTAAGGCGTTTC-3' (역방향 프라이머), 인체 GAPDH에 대하여 5' -ACCACAGTCCATGCCATCAC-3' (정방향 프라이머) 및 5' -TCCACCACCTGTTGCTTGTA-3' (역방향 프라이머), 오스테오칼신에 대하여 5' -CCCAAAGGCTTCTGTGTG-3' 및 5' -CTGGTAGTTGTTGTGAGCAT-3' , 및 5' -ATGAGAGCCCTCACACTCCTC-3' (정방향 프라이머) 및 5' -GCCGTAGAAGCGCCGATAGGC (역방향 프라이머)(Drissi et al., 1997). 1.5% 아가로스 한천 전기영동에 의해 PCR 산물을 검출하고, 촬영하였다.

[0038] 상기와 같은 실시예 1 내지 6을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

- [0039] 푸코이단은 해양 갈조류로부터 유래한 대표적인 설페이트화 다당류의 하나이다. 설페이트화된 다당류, 예를 들어, 글루코사민 설페이트, 키토산 설페이트, 헤파린 및 헤파란 설페이트는 세포 표면 및 세포의 매트릭스와 관련된 거대분자이다(Xiao et al., 2004; Naghata et al., 2005). 이들 다당류는 음으로 고도 충전된 다당류 사슬을 통해 BMPs를 포함한 다수의 성장 인자와 직접 작용한다. 실제로, 헤파린-친화성 크로마토그래피는 탈염된 골 매트릭스로 제조된 추출물로부터 BMP 활성을 측정하는데 이용되고 있다(Wang et al., 1990).
- [0040] 상기한 바와 같이, 본 발명에서는, 골 건강 및 무기화에 대한 푸코이단의 유의한 효과를 확인하기 위하여, 미역에서 추출된 푸코이단이 각각 초기 단계 및 말기 단계 분화에 대한 표현마커(phenotypic marker)인 알칼리성 포스파타아제(ALP)의 활성 및 오스테오칼신(OC)의 수준을 증가시킬 수 있는지 여부를 조사하였다. 또한 골 형성 및 무기화에 대한 중요한 인자인 골 형태형성 단백질-2(bone morphogenic protein-2; BMP-2)의 생산에 대한 푸코이단의 양성 효과를 연구하였다.
- [0041] 이를 통해, 우선 MTT 분석에 의해 MG-63의 세포 증식에 대한 다양한 농도의 푸코이단의 영향을 측정하였다. 그 결과, 푸코이단이 세포주 처리 24 시간 후 이용된 농도 (10 g/mL 내지 250 g/mL)에서 세포 증식에 유의적인 영향을 미치지 못했음이 나타났다(도 1 참조). 또한 푸코이단 100 g/mL 처리가 72 시간 동안 세포 생존력에 대해 유의적인 효과를 나타내지 않았다(도 2 참조).
- [0042] 골아세포의 성숙에 대한 푸코이단의 효과를 MG-63 세포에서 알칼리성 포스파타아제 활성을 측정하여 연구하였다. 그 결과, 푸코이단이 각 세포를 처리한 지 48 시간 후 알칼리성 포스파타아제 활성 및 mRNA 발현을 용량의존적 방식으로 증가시켰다(도 3 참조).
- [0043] 또한 골아세포-형 세포의 최종 분화에 대한 푸코이단의 효과를 배양 배지에서 골아세포의 농도를 측정함으로써 연구하였다. 오스테오칼신은 골아세포에 의해 배양 배지로 분비되는 골아세포의 최종 세포 분화에 대한 특이적 세포 마커 단백질이다. 푸코이단으로 48 시간 동안 처리된 MG-63에서 오스테오칼신 합성이 유의적으로 증가되었다. 더욱이 푸코이단이 농도-의존적 방식으로 오스테오칼신 합성을 촉진하였다(도 4 참조).
- [0044] 알리잘린 레드 S 염색 데이터(도 5 참조)에 따르면, 푸코이단이 세포 중 하이드로아파타이트(hydroapatite)의 양을 증가시켰다. 미네랄 세포내 수준의 양이 농도-의존적 방식으로 보다 많았다.
- [0045] 본 발명에서는 RT-PCR을 이용하여 골 형태형성 단백질 유전자의 발현 및 골 형태형성 단백질 ELISA 키트를 이용하여 푸코이단의 존재 또는 부재 하에서 골 형태형성 단백질 합성을 조사하였다. 그 결과, 푸코이단이 MG-63 세포에서 BMP-2 mRNA 및 단백질 합성의 유의적 증가를 야기시켰다. 푸코이단 처리 24 시간 후, BMP-2의 생산이 용량-의존적 방식으로 유의적으로 증가하였다(도 6 참조). 또한, 푸코이단의 존재 및 부재 하에서 MG-63 및 세포에서 RT-PCR을 이용하여 BMP-2 유전자의 발현을 조사하였다.
- [0046] 골 형태형성 단백질(BMP)은 골 형성 및 리모델링 과정에서 중요한 역할을 한다(Sykaras and Opperman, 2003). 골아세포 분화의 촉진이 주로 알칼리성 포스파타아제 및 오스테오칼신의 증진된 발현을 특징으로 한다는 사실이 밝혀진 바 있다(Xiao et al., 2004). 특히, 재조합 인체 골 형태형성 단백질(rhBMP)-2은 골 형성에서 중요한 역할을 하고, 골절 치료를 증진시킨다고 나타난 바 있다. 골절 치료에 있어, 골절부 주위 골형성 세포, 섬유아세포-형 방추 세포 및 연골 골화에 관여하는 섬유아세포에서 BMP 수용체 발현이 증가되었다(Onishi T, et al., 1998). 흥미롭게도, BMP-2에 의한 골-치료 이점의 촉진이 중간엽 세포(mesenchymal cell) 및 간세포(osteoprogenitor cell)의 증식 및 분화를 촉진시키는 능력에 기인하며, 이들 모두는 혈관신생과 관련이 있다. 골 형태형성 단백질(BMP)은 TFG- β 상과의 일원으로서, 배 발생(embryonic development)을 조절하고, 발생단계 조직에서 정규 장소 이외의 골 형성을 유도한다 (Urist, 1965; Hogan, 1996; Holleville et al., 2003). 골아세포 계통의 세포에서, BMP 2, 4, 및 7은 알칼리성 포스파타아제, 제1형 콜라겐 및 분화된 골아세포와 일치하는 표현형인 골상의 다른 비콜라겐성 골 단백질의 발현을 유도한다(Cheifetz et al., 1996; Li et al., 1996; Cheng et al., 2003).

도면의 간단한 설명

- [0047] 도 1은 MG-63 세포의 생존력에 대한 용량-의존적 방식으로 푸코이단의 효과를 나타낸 도이다.
- [0048] 도 2는 MG-63 세포의 생존력에 대한 시간-의존적 방식으로 푸코이단(100 μ g/mL)의 효과를 나타낸 도이다.
- [0049] 도 3은 다양한 농도의 푸코이단으로 48시간 처리한 세포에 대한 알칼리성 포스파타아제 분석 결과를 나타낸 도이다.

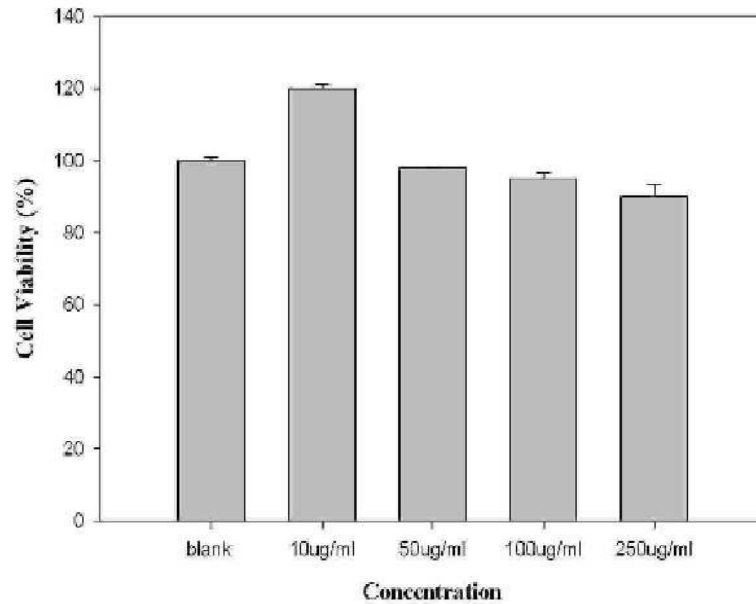
[0050] 도 4는 MG-63 세포의 오스테오칼신 분비에 대한 푸코이단의 효과를 나타낸 도이다.

[0051] 도 5는 배양 후 7일 동안 알리자린 레드-S 염색 결과, 대표적인 염색된 세포 배양액 사진이다.

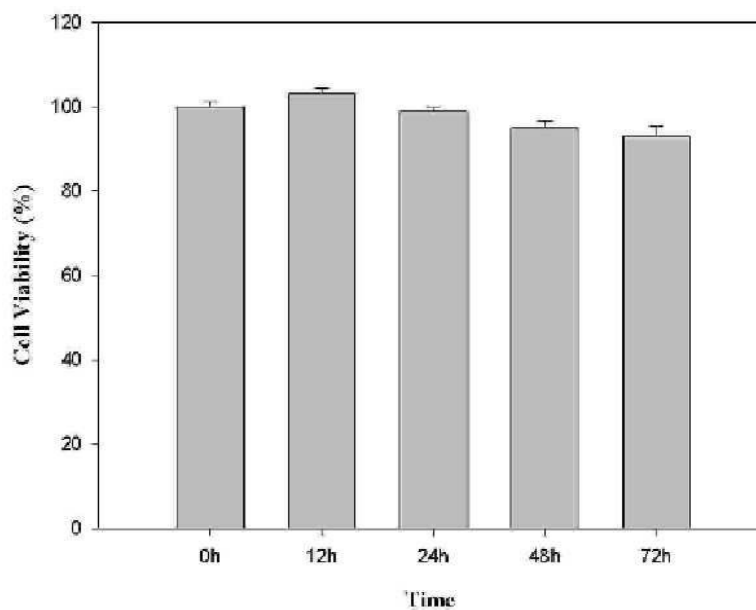
[0052] 도 6은 푸코이단의 BMP-2 수준 증가 효과를 나타낸 도이다.

도면

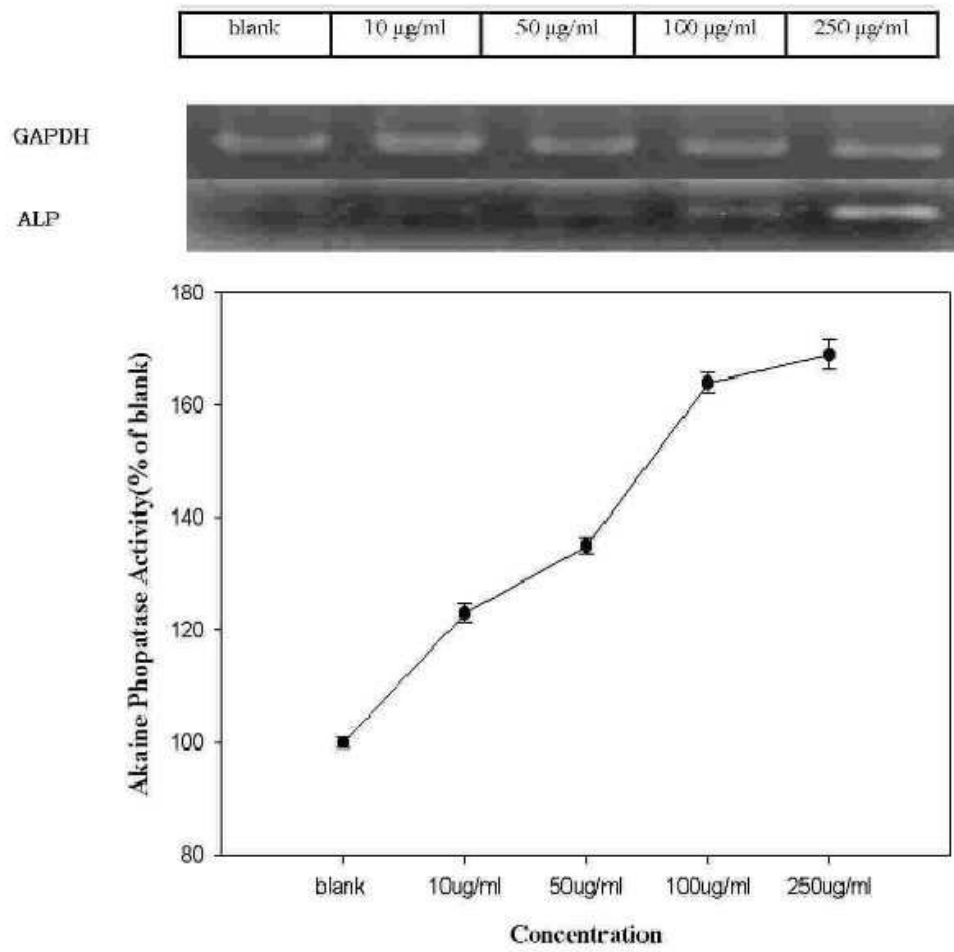
도면1



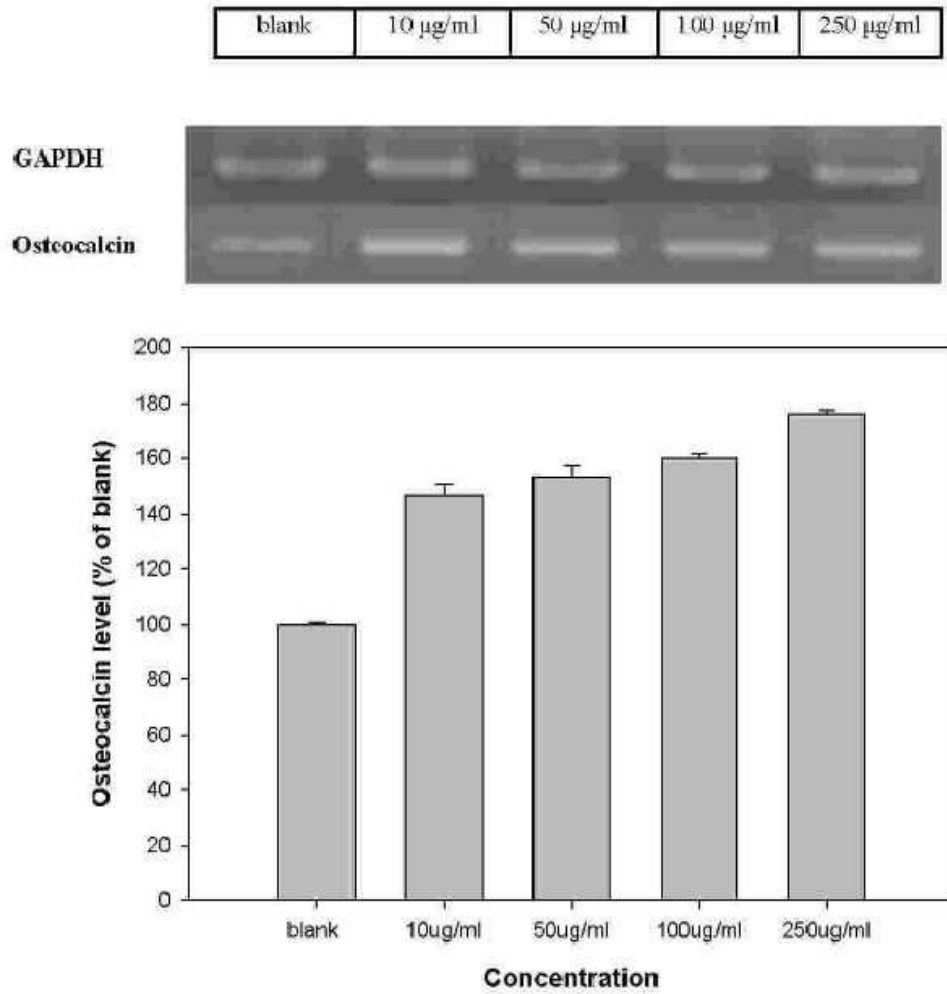
도면2



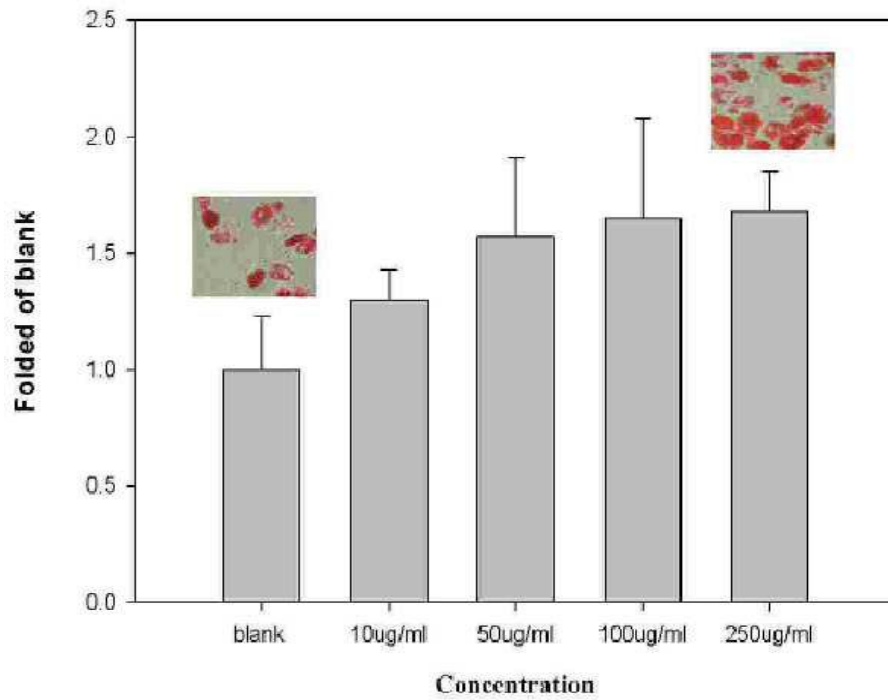
도면3



도면4



도면5



도면6

