

한국 독사독으로부터 혈전 용해제 개발에 관한 연구
(Development of a thrombolytic agent from Korean snake venoms)

이문한, 김병재*, 이항, 류판동, 조명행, 이해숙, 김종호, 채창수

서울대학교 수의과대학

이 연구에서는 혈전증 치료에 사용되는 혈전 용해제를 국내 독사독으로부터 개발하기 위한 실험을 실시하였다. 그 내용을 요약하면 다음과 같다.

국내에 서식하는 독사인 *Agkistrodon blomoffi brevicaudus*, *Agkistrodon caliginosus* 와 *Agkistrodon saxatilis*에서 각각 사독을 채취하여 fibrin plate 방법으로 fibrin 분해능을 조사하여 *Agkistrodon blomoffi brevicaudus*의 독이 분해능이 가장 우수함을 밝혔다. 이와같은 사실에 기초하여 *A. blomoffi brevicaudus*의 독으로부터 p-Aminobenzamidine affinity chromatography와 DEAE ion-exchange chromatography를 이용하여 분자량이 50.8 kDa인 활성 단백질을 정제하였다. 위에서와 같은 방법으로 정제한 단백질은 fibrin 분해능이 우수하고 fibrinogen의 γ chain은 분해하지 않으나 $\beta\beta$ chain을 $\alpha\alpha$ chain에 비하여 보다 선택적으로 분해하는 단백분해효소임을 증명하였다. 이 정제 효소의 Fibrin에 대한 분해능은 266ug/ml의 농도에서 plasmin 1.0 unit (=3.0 WHO unit)보다 높게 나타났다. 정제된 효소는 chromogenic substrate인 N-Benzoyl-Phe-Val-Arg-pNA와 N-p-Tosyl-Gly-Pro-Arg-pNA의 arginine carboxyl side를 분해하고 pH 7.5에서 최대 활성을 보이며, V_{max} 는 5.46 $\mu\text{mol/l} \cdot \text{min}$ 이고, K_m 값은 0.20mM이며, 그리고 Cu^{2+} , Zn^{2+} , soybean trypsin inhibitor에 의해 25~50%정도, serine proteinase inhibitor인 phenylmethylsulfonyl fluoride에 의해 80%정도 활성이 억제되는 특성이 있음을 규명하였다.

정제한 효소의 혈전 용해 능력을 살피기 위해 토끼에서 혈소판 응집억제 실험을 실시하였다. 토끼에 thrombin을 주입한 후 얻은 혈액에서 platelet count ratio는 주입한 후 0.2까지 급격히 떨어져 24시간 동안 낮게 유지되었으나, 정제 효소를 동시에 주입한 후 얻은 혈액에서의 ratio는 1시간만에 0.8이상으로 6시간 안에 0.9까지, 그리고 24시간안에 정상 수준인 1.0으로 회복되어, 정제된 효소가 혈소판 응집을 억제하는 것으로 보아 생체내에서도 혈전 용해 능력이 있을 것으로 예측된다.