

Isolation and purification of Cd-binding high molecular weight protein in rat liver

Bong-Hee Kim and Ki-Jung Chun*

충남대학교 약학대학, *한국 원자력 연구소

본연구는 중금속에 의한 생체내 독성기전을 연구하고자 흰쥐간의 상층액에서 카드뮴과 잘 결합하는 HMWP들을 분리, 정제하고 나아가 생화학적 특성을 밝히고 이단백질이 카드뮴에 의해 생성되는 것인지 아니면 간의 기존 단백질인지를 밝히고자 함을 연구의 목적으로 하였다.

CdCl₂ 2% (3mg/kg body wt.)을 3일간 ip injection시킨 후 흰쥐의 간을 적출하고 균질화하여 원심분리한 crude extract를 직접 Sephacryl S-100에 흡착시켜 10mM phosphate buffer(pH 7.0)으로 용출시켰다. 용출된 fraction tube를 UV spectrometer로 흡광도를 측정하고 atomic absorption spectrophotometer로 카드뮴량을 측정하여 카드뮴량이 높은 분획을 모아서 ion exchange column chromatography(DEAE-Sephacryl)에 흡착시켜 염농도 구배로 chromatography를 실시하고, 음이온 교환수지에서 흡착되지 않고 용출된 분획을 ultrafiltration으로 농축시킨 후 S-Sephacryl에 흡착시켜 염농도 구배로 chromatography를 실시한 결과 두종류의 카드뮴 결합 단백질(Cd-BP)를 분리, 정제하였다.

분리정제된 두종류의 Cd-binding protein의 분자량을 측정하기 위하여 10% SDS-PAGE를 한 결과 DEAE-Sephacryl에서 분리 정제된 Cd-BP의 분자량은 33,000이었고, S-Sephacryl에서 분리, 정제된 Cd-binding protein의 분자량은 18,400이었다. 또한 효소활성도를 검토한 결과 분리된 카드뮴결합 고분자 단백질은 alcohol dehydrogenase 및 alkaline phosphatase가 아님을 알 수 있었다.