

Zn결핍이 3T3 Cell의 Caspase 3 Activity에 미치는 영향

홍희옥* · 유준희, 상명대학교 사범대학 가정교육학과

Caspase 3는 Apoptosis에 관여하는 효소로서 Free thiol group을 Active site로 가지고 있는 Cysteine으로 구성되어 있다. 한편 Zn는 thiol과 반응할 수 있는 고유의 기능을 가지고 있다. 따라서 높은 농도의 Zn가 Caspase 3의 Cysteine thiol group과 결합하여 직접적으로 Caspase 3 Activity를 억제시켜 Apoptosis로부터 세포를 보호할 수 있으며 반면에 Zn의 결핍이 Caspase 3 Activity를 증가시킬 수 있는지 그 가능성을 검토하기 위하여 본 실험을 실시하였다.

3T3 Cell를 Control 배양액(7.5% Fetal Bovine Serum : 92.5% DMEM)에 24시간동안 배양시킨 다음 실험 배양액(0.5 μ M Zn, 5 μ M Zn, 50 μ M Zn, Control)으로 바꾸어 준 후 24시간, 48시간, 72시간동안 각각 배양시켰다. Zn결핍 배양액(0.5 μ M Zn)은 FBS를 Vitro에서 Chelator DTPA(diethylenetriamine pentaacetic acid)를 사용하여 만들었으며 이 배양액에 최종 Zn 농도가 5 μ M, 50 μ M이 되도록 Zn를 각각 첨가하여 실험 배양액으로 사용하였다. 매 24시간마다 Cell들을 수집하여 Lysis buffer로 용해시킨 후 Apo Alert Caspase 3 Assay 방법을 이용하여 세포의 추출물에서 Caspase 3 Activity를 측정하였다.

0.5 μ M Zn에서 24시간, 48시간, 72시간 배양되었던 Cell들의 Caspase 3 Activity가 5 μ M Zn, 그리고 50 μ M Zn에서 배양되었던 Cell들의 Caspase 3 Activity에 비하여 증가하였다. 또한 48시간, 72시간 동안 5 μ M Zn에서 배양되었던 Cell들의 Caspase 3 Activity보다 유의적으로 높게 나타났다. Zn가 결핍된 배양액에서 배양되었던 Cell들의 추출물에 5 μ M, 15 μ M, 30 μ M, 50 μ M, 그리고 100 μ M Zn를 각각 첨가시켰을 때 Caspase 3 Activity가 20%, 50%, 65%, 70%, 그리고 80%로 각각 억제되었다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때 3T3 Cell에서의 Zn결핍은 Caspase 3 Activity를 강력하게 유도하여 Cytoplasmic proteolytic cascade를 활성화시키며 결국 Apoptosis를 유발시킬 수 있는 것으로 사료된다.