

## Osteopontin단백질의 분리정제

김동운\*, 정석근, 인영민, 함준상, 최기원, 윤상기  
 농촌진흥청 축산기술연구소

Osteopontin은 산성단백질로 분자량은 60,000정도로 콩팥, 자궁, 피부 등의 여러 조직에서 발견되었으며, 미생물감염에 대한 방어, 세포손상시의 방어기전 등의 여러 가지 생리적 기능을 가지고 있다. 본 연구는 여러 조직에서 발견된 Osteopontin중 우유의 Osteopontin단백질의 특성을 연구하기 위하여 Osteopontin을 분리정제 하였다.

먼저 원유를 탈지하여, 양이온 교환수지인 DEAE column에 loading하였다. 염의 농도를 달리하여 추출된 fraction을 UV를 이용하여 280nm에서 흡광도를 조사하고, 확인된 fraction은 SDS-PAGE로 분자량(Mr. 60,000)을 확인하였다. 두 번째로 분자량이 확인된 fraction을 Phenyl-Sephrose column에 loading하였고, 추출은 염의 농도를 달리하여 추출하고, 각 fraction을 UV를 이용하여 280nm에서 측정 하 한 후 active fraction을 SDS-PAGE를 이용하여 분자량을 확인하였다. 세 번째로 분자량이 확인된 fraction을 다시 Phenyl-Sepharse column에 loading하였다. 추출은 염의 농도를 달리하여 추출하였고, 각 fraction을 다시 UV와 SDS-PAGE를 이용하여 분자량을 확인하였다. 이렇게 확인된 fraction들을 투석 한 후 centricon으로 농축하였고, SDS-PAGE를 이용하여 분자량을 재확인하였다. 분리된 단백질을 최종 확인하기 위하여 단백질의 N-terminal sequence를 조사한 결과 Leu-Pro-Val-Lys-Pro-Thr-Ser의 순으로 Osteopontin과 동일 물질임을 확인하였다.