

P-51 사람 난포액 내의 Caseinolytic Enzyme의 분리

서울여자대학교 생명공학과 발생학 연구실, '미래와 희망 산부인과

심명선 · 김해권 · 이승재¹

목 적: 포유동물의 성숙한 난포의 난포액 속에는 여러 종류의 단백질과 단백질 분해효소가 있으며 난소와 난자의 기능과 관련하여 중요한 역할을 할 것으로 기대되나 여전히 그 정체와 역할이 정확하게 알려져 있지는 않다. 본 연구에서는 사람의 난포액을 대상으로 caseinolytic enzyme의 존재여부를 조사하고 나아가서 동효소를 분리하여 특성을 알아보려고 하였다.

대상 및 방법: 체외수정시술 시에 채취된 난포액을 원심분리하여 상층액을 얻은 후 이를 직접 사용하거나 동결보존한 후 사용하였다. 난포액 내의 caseinolytic enzyme의 특성을 알아보기 위해 여러 가지 단백질 가수분해 효소의 억제제의 효과 그리고 이가 금속 양이온의 의존성 등을 알아 보았다. 난포액 내의 단백질은 DEAE sepharose 크로마토그래피, Cibacron blue F3GA를 이용한 염색 친화 크로마토그래피, α -casein agarose를 이용한 친화 크로마토그래피 등의 방법으로 분리하였고 이 때 효소의 존재는 zymography, silver staining 방법으로 확인하였다.

결 과: 난포액의 caseinase는 분자량 84 kDa으로써 trypsin-like proteinase inhibitor인 SBTI와 metal chelator인 EDTA에 의해 활성이 감소하였으며, serine protease inhibitor인 phenylmethylsulfonyl fluoride와 metalloproteinase inhibitor인 1, 10-phenanthroline 그리고 cystein proteinase inhibitor인 E-64에 의해서는 영향을 받지 않았다. 또한 칼슘, 마그네슘, 망간이온에 의해서는 활성화되었다. DEAE Sepharose 크로마토그래피의 결과 pH 7.4에서는 void volume에서 효소의 활성이 관찰되었고 Cibacron blue F3GA와 α -casein agarose chromatography로 분리하였을 때에는 각각 1 M NaCl 분획에서 용출되었다.

결 론: 난포액 내에는 분자량 84 kDa에 달하는 caseinolytic enzyme이 존재하며 이 효소는 칼슘, 마그네슘, 망간에 의해 활성화되는 trypsin-like enzyme으로 여겨진다.