

Purification of a [Arg^o]-vasotocin and Isotocin from the brain of conger eel (*Conger myriaster*)

고혜진, 박남규

부경대학교 식품생명공학부 생물공학전공

서론

Vasopressin (VP)/Oxytocin (OT) 그룹은 대부분의 포유류의 뇌하수체 후엽에 존재하는 신경성 펩타이드로서 9개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 1번과 6번 잔기의 Cys이 disulfide bond로 결합된 cyclic구조를 지니며, C말단이 아미드화 되어있다. 또한 이들은 2, 3, 4 및 8번 위치에서 서로 다른 아미노산으로 치환되어 있다 (1). 이들 VP/OT 그룹은 척추동물에 있어서 VP는 항 이뇨작용, 혈압조절 및 삼투조절활성을 가지고 있는 반면, OT는 자궁수축, 유즙분비, 혈관 평활근 조절활성을 가지고 있다. 척추동물 및 무척추동물에 광범위하게 존재하고 있음이 확인되었다 (1-5).

붕장어 (*Conger Myriaster*)는 뱀장어 (*Anguilliformes*)목에 해당하는 붕장어과 (*Congridae*) 경골어류로서, 우리나라에서 일 년 내내 즐겨먹는 대표적인 생선회의 하나로, 일반적으로 아나고로 알려져 있지만, 이들로부터 신경성 펩타이드에 관한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 붕장어의 뇌 조직으로부터 금붕어 장관에 대해 수축활성을 나타낸 [Arg^o]-vasotocin (AVT)와 Isotocin (IT)을 처음으로 정제하였다. 이들 AVT와 IT는 포유류 유래의 neurohypophysial hormone인 Vasopressin (VP)과 Oxytocin (OT)과 함께 어류장관 평활근에 대한 활성을 비교, 측정하였다.

재료 및 방법

1. 붕장어의 뇌로부터 추출물 조제 : 217마리의 붕장어 뇌를 300 mL의 끓는 물에 15분간 가열한 뒤, 초산 15 mL를 첨가하여 균질화한다. 원심분리 후 얻어진 상층액을 치중적으로 농축하여 Sep-Pak C18 cartridge column (20 mL, Waters, MA, USA)에 적용하여 금붕어 장관평활근에 대해 강한 수축활성을 나타낸 RM 60분획으로부터 활성펩타이드를 정제하였다.

2. 평활근 수축활성펩타이드의 분리 및 정제

금붕어 장관에 대해 수축활성을 나타낸 RM 60은 역상, 이온, 분자량 column을 이용한 6단계의 HPLC과정을 거쳐 평활근 수축활성 펩타이드를 분리하였다.

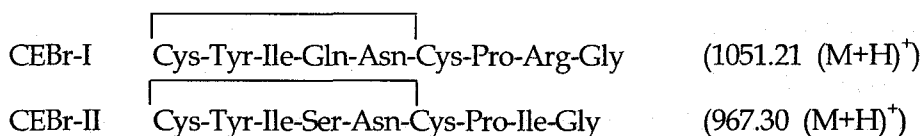
3. 금붕어 장관에 대한 수축활성측정

금붕어 장관이 약 1 cm가 되도록 적출하여 반응조내에 연결한 뒤 1.0 g의 장력을

준다. 실온에서 15분 간격으로 완충액을 교체하면서 1시간정도 안정화시킨 후 활성을 측정하였다. 사용한 완충액의 조성은 다음과 같다: (mM) NaCl 110, KCl 2, CaCl₂ · H₂O 1, Glucose 10, 0.5 M Tris-HCl (pH 7.8) 5.

결과 및 요약

경골어류인 붕장어 (*Conger myriaster*)의 뇌 조직으로부터 평활근 수축활성을 지닌 2종류의 펩타이드 (CEBr-I, CEBR-II). 이들은 6단계에 이르는 gel-filtration, heparin-affinity, ion-exchange, C₁₈ column을 교차·반복적으로 사용하여 순수하게 정제하였다. 정제한 활성 펩타이드들의 일차구조는 automated amino acid sequencer, MALDI-TOF mass를 이용하여 다음과 같이 결정되었다.



CEBr-I과 [Arg⁸]-vasotocin (AVT), CEBR-II와 Isotocin (IT)과의 동일성여부를 확인하기 위해, 분자량과 HPLC상의 머무름시간을 비교한 결과, 각각의 합성물과 천연물은 같은 분자량을 가졌으며, 동일한 머무름시간을 가지고 용출되었다. 따라서 정제된 CEBR-I은 AVT와, CEBR-II는 IT와 동일한 물질임이 판명되었다. 또한 AVT와 IT를 포유류 유래의 뇌하수체 호르몬인 vasopressin (VP) 및 oxytocin (OT)과 함께 금붕어와 붕장어 장관 평활근에 대한 수축활성을 비교한 결과, 금붕어 장관 평활근에 대한 이들 신경성 펩타이드들의 수축활성의 크기는 AVT > VP > OT > IT순이었으며, 붕장어 장관에 대한 활성세기는 AVT > OT > VP > IT의 순으로 나타냈다.

참고문헌

1. Acher, R. and Chauvet, J. The neurohypophysial endocrine regulatory cascade: Precursors, Mediators, receptors and effectors. (1995) *Front. Neuroendocrinol.*, 16, 237-289.
2. Chauvet, M.T., Hurpet, D., Chauvet, J. and Acher, R. Identification of mesotocin, lysine-vasopressin, and phenypressin in the eastern gray kangaroo (*Macropus giganteus*). (1983) *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49, 63-72.
3. Chauvet, M.T., Hurpet, D., Chauvet, J. and Acher, R. Identification of mesotocin, lysine-vasopressin, and phenypressin in the eastern gray kangaroo (*Macropus giganteus*). (1983) *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49, 63-72.
4. Conklin, D.J., Smith, M.P. and Olson, K.R. Pharmacological characterization of arginine vasotocin vascular smooth muscle receptors in the trout (*Oncorhynchus mykiss*) *in vitro*. (1999) *Gen. Comp. Endocrinol.*, 114, 36-46.
5. Nozaki, M. and A. Gorbman. Immunocytochemical localization of somatostatin and vasotocin in the brain of the pacific hagfish, *Eptatretus stouti*. (1983) *Cell Tissue Res.*, 229, 541-550.