

제 목	Affinity column과 베타수용체 정제 조건
연구자	고 광 호 ^a , 신 찬 영 ^a , 강 현 삼 ^b
소 속	^a 서울대학교 약학대학 ^b 서울대학교 자연과학대학
내 용	<p>일반적으로 단백질의 정제를 위한 가장 효과적인 방법은 affinity chromatography법으로 알려져 있다. 본 연구에서는 베타 수용체의 순수정제를 위한 효과적인 affinity matrix를 제조하고 이의 특징을 확인함으로써 수용체 정제를 위한 기초를 수립하고자 하였다.</p> <p>Bisoxirane reagent인 1,4-butanediol diglycydyl ether를 Sepharose CL-4B gel과 반응시켜 탄소원자 10개 길이의 spacer arm을 부착시켰다. 여기에 sodium persulfate, dithiothreitol을 연속적으로 사용하여 -SH기를 도입시킨 후 free radical반응을 이용하여 베타수용체 길항제인 alprenolol을 부착시킴으로써 affinity gel을 제조하였다. alprenolol의 부착반응을 위한 최적온도는 40°C로 나타났으며, semimicro Kjeldahl 질소 분석법을 적용하여 gel을 분석한 결과 ml당 0.4 - 0.6 μ mol의 alprenolol이 결합하였음을 확인하였다.</p> <p>제조된 affinity gel은 베타수용체에 대한 높은 흡착능을 지니고 있었으며 이는 포화성을 지니고 있었다. 수용체에 대한 affinity gel의 비가 0.1 이상일 때 가해진 수용체의 90%가 흡착되었으며 일반 단백질은 10% 미만만이 흡착되므로 이를 수용체의 정제에 사용 가능함을 확인하였다.</p> <p>Affinity gel의 베타수용체에 대한 특이성을 살펴보기 위해 각종 베타수용체 효능약 및 길항약에 의한 수용체 흡착과 유리의 영향을 알아보았다. 흡착억제와 수용체 유리능의 크기는 isoproterenol \gg norepinephrine \gt epinephrine 의 순서로 이는 베타수용체에 대한 이들 약물의 친화력의 크기와 일치하였으며, 이러한 능력은 농도 의존성과 입체특이성도 보임을 확인하였다. 수용체 유리의 EC₅₀은 (-)-isoproterenol의 경우 8μM, (-)-propranolol의 경우 50nM 이었고, 따라서 실제 affinity chromatography시에 효과적으로 베타수용체 유리에 사용될 수 있음을 확인하였다.</p> <p>이상의 연구 결과 합성된 affinity gel은 베타수용체에 대한 강한 결합력과 흡착 및 유리의 biospecificity를 지니고 있음을 확인하였고, 이는 alprenolol-Sepharose CL-4B를 이용한 베타수용체의 정제가 성공적으로 수행될 수 있음을 의미한다.</p>