

GLYCINE 수송체 - 신경운동성 질환과의 연계성

김 경 만

전남대학 약학대학

Glycine은 GABA와 함께 뇌에 작용하는 중요한 억제성 신경전달 물질이다. GABA가 대뇌등에서 중요한 역할을 하는 반면, GLYCINE은 연수, 척수, 간뇌에 특히 다량 존재한다. GLYCINE은 GLYCINE RECEPTOR에 작용하여 수용체와 연결된 chloride channel의 conductance를 증가시킴으로써 target세포의 활성을 억제한다. 그러므로, glycine의 신경전달체계에 이상이 오면 spastic mouse등에서 볼수 있는 것처럼 neuromuscular disorder가 유발된다.

신경전달 물질은 presynaptic 세포에 자극이 오면 synaptic cleft로 분비가 된후 presynaptic이나 postsynaptic 세포에 위치한 수용체에 작용하여 생리 활성을 나타내거나, 분해효소에 의해서 생리활성이 없는 물질로 바뀌든지, presynaptic cell에 위치한 transporter(수송체)에 의해서 presynaptic 세포로 reuptake되서 cycle를 끝낸다. Glycine의 경우는 synaptic cleft로 분비된 후 glycine transporter에 의해서 reuptake된다. 그러므로 glycine transporter의 활성 정도는 synapse내의 glycine의 농도를 조절하며 더 나아가 glycine이 glycine receptor에 작용하는 시간에 영향을 줌으로써 target 세포의 활성정도를 결정한다.

최근 transporter gene family가 거의 폭발적으로 molecular cloning 되었다. Norepinephrine과 GABA transporter가 처음 expressing cloning 방법으로 cloning되자, 이 gene들을 probe로 쓰든지 degenerate primer를 만들어서 PCR을 하는 방법등으로 많은 transporter gene 들이 cloning 되었다. 이들 transporter들은 12개의 putative transmembrane domain을 가지고 있으며, glutamate transporter를 제외하고는 모두 sodium, chloride-dependent transport activity 를 보인다.

본인은 새로운 transporter gene을 cloning 하기 위해서, 전에 cloning이 된 dopamine transporter를 probe로 사용하여 human substantia nigra cDNA library를 screen하였다. Transporter들 사이에 특히 잘 conserve 되어있는 부분인, 첫째에서 두 번째 transmembrane domains 까지를 probe로 써서 low stringency조건에서 library를 screen을 하였을때 약하게 hybridize하는 몇개의 partial clones을 얻었다. 이들을 plaque purify 한 후 pBluescript에 subclone하여 sequencing을 하였는데, 그중 한개

의 clone(SNH7 이라고 명명함)이 새로운 transporter gene 이었다. 이 clone을 probe 로 하여 같은 library를 high stringency 조건에서 screen하여 9개의 partial clones 을 얻었다. 이들 clones의 sequence를 서로 연결해서 분석결과 5'-untranslated region을 포함하여 9th transmembrane domain까지의 sequence information을 가졌음을 발견 하였다. 전체 sequence를 얻기위해서 RACE PCR (rapid amplification of cDNA ends polymerase chain reaction)을 수행 하였다. 이를 위해서 human substantia nigra tissue에서 total RNA를 만들어서 oligo-dT priming으로 cDNA를 만든후 순차 적인 specific primers와 (A)₁₇ 을 포함하는 primer를 써서 nest-PCR을 하였다. PCR product를 sequencing하여 3'쪽의 sequence information 을 얻을 수 있었다.

Mammalian cell에 expression하기위하여 Human substantia nigra tissue에서 mRNA 를 만든 후 RT-PCR로 이 gene의 전체의 open reading frame을 amplify하여 expression vector(pRC/CMV)에 subclone 하였다. COS-7cell에 expression 시켜서 약 20개의 물질을 test해 본 결과 glycine이 이 clone에 의해서 uptake가됨을 발견하였다. 이 express된 단백질은 glycine을 Na⁺, Cl⁻-dependent하게 uptake 하였으며 이 단백질에 대한 glycine의 affinity는 60-80μM 이 되었다.

Chromosome localization study 결과 이 gene은 human chromosome-1에 위치하고 있음이 밝혀졌다. 흥미있는 사실은 이 gene은 mouse chromosome-4에 위치하고 있는데, neuromuscular disorder 의 animal model의 하나인 clasper mouse의 clasper gene (cla)의 위치와 대단히 근접하다. 이는 또 하나의 neuromuscular disorder 인 spastic mouse의 경우 glycine receptor gene의 이상에 기인한다는 사실을 고려해 볼때 clasper와 glycine transport와의 연계성은 대단히 크다고 생각된다.