

| | |
|-----|---|
| 제 목 | 세포능식촉진인자(MPF)의 특이적 억제제 생산 토양균주의 검색 및 억제제의 분리와 특성규명에 관한 연구 |
| 연구자 | 박 희 동, 박 상 곤, 이 승 기 |
| 소 속 | 서울대학교 약학대학 |
| 내 용 | <p>본 연구에서는 토양균이 생성하는 2차 대사산물로부터 세포증식 촉진인자 (Maturation Promoting Factor: MPF)인 cdc2/cdk2-cyclin의 복합체를 특이적으로 억제하는 물질을 분리하고 그 물질의 생리활성을 조사하였다.</p> <p>토양으로부터 순수분리된 300여개의 토양균에서 생성된 배양액을 취하여 MPF의 특이적인 기질인 합성 peptide (CSH103 :HATPPKKRK)를 사용하여 인산화 활성을 측정하였다. 그중 MPF 활성 억제능이 90% 이상인 13개의 균주를 1차적으로 선정한 후 각각에 대하여 열/pH에 대한 안정성, 각종 용매에 대한 추출성 등 이화학적 성질을 규명하였으며 이중 균주 LPL 931로부터 MPF 활성 억제제를 분리하고자 하였다.</p> <p>예비실험의 결과로부터 토양균 LPL 931을 대량배양하여 열처리하고,비이온성 수지인 Amberlite XAD-2에 결합시키고 70% acetone으로 용출시켰다. 이 추출물로부터 ethylacetate와 n-butanol을 사용하여 MPF 억제 활성물질을 추출하였다. 이 추출액을 실리카겔 판 크로마토그래피, 분취 TLC, 분취 HPLC를 하여 MPF 활성 억제 분획을 분리하였다.</p> <p>위와 같은 조작을 거쳐 분리된 LPL 931의 활성분획이 특이적인 MPF 활성 억제인자임을 보이기 위해 cdc2와 cdk2 항체를 사용하여 immunoprecipitation kinase assay를 수행하였고, 암세포 배양상에서 MPF 활성 억제 물질에 의한 세포의 성장 분열 억제를 측정하는 MTT assay와 DNA 합성능에 대한 영향을 thymidine incorporation 실험을 통해 관찰하였다.</p> <p>이와같은 실험 결과, LPL 931로부터 생성되는 물질이 세포의 성장, 분열을 조절하는 MPF를 특이적으로 억제함을 밝혔으며 또한 암세포 배양에서 세포성장억제 및 DNA 합성억제 활성이 있음을 관찰하였다. 따라서 본 MPF 활성 억제물질은 세포내 신호 전달기전을 연구하기 위한 실험용 도구로 이용될 수 있을 뿐만 아니라, 암세포의 성장을 조절하는 신호전달에 선택적으로 작용하는 새로운 기전의 항암제로 개발될 수 있다는 가능성을 제시하고자 한다.</p> |