

## E115

적토룡 (*Lumbricus rubellus*)에서 혈전 용해능이 있는 단백질의 순수 분리 및 특성 분석

박 용두\*, 심 재희<sup>1</sup>, 김 종원<sup>1</sup>, 박 선양<sup>2</sup>, 민 병구\*<sup>1</sup>, 정 종문<sup>3</sup>

서울대학교 공과대학 의용생체 협동과정\*, 서울대학교 의과대학 의공학 연구소<sup>1</sup>, 서울대학교 의과대학 내과<sup>2</sup>, 수원대학교 생물학과<sup>3</sup>

동양에서 예로부터 혈전치료제로 사용되어온 적토룡 (*Lumbricus rubellus*)에서 혈전 용해능이 있는 단백질을 순수 분리하였다. 전처리 과정과 두종의 컬럼크로마토그래피(음이온 교환, 친화성)를 거쳐 분자량이 서로 다른 2종의 혈전용해능이 있는 효소를 분리하였는데, SDS-PAGE에 의해 이들 효소의 분자량이 각각 34, 34.2 kDa인 것으로 나타났다. 이들 효소에 대한 단백질 효소의 여러가지 억제제를 사용 실험한 결과, trypsin과 유사한 성질을 가지는 것으로 판명되었다. 특히 이 효소는 온도와 pH에 대해 상당히 안정한 것으로 관찰되었다. Fibrinogen의 단백질 부분절단 실험에서는 fibrinogen의  $\alpha\alpha$  - chain은 잘 절단되지 않는 반면  $b\beta$  - chain은 빠른 시간내에 여러 단백질 조각으로 절단되는 등 trypsin과 매우 유사한 양상을 보였다. 또한, 위 두가지 효소의 N말단 아미노산 서열은 서로 동일하였다.

## E116

### HEAT SHOCK RESPONSE OF UBIQUITIN BINDING PROTEINS IN *AMOEBA PROTEUS*

이소영, 유소연, 안태인. 서울대학교 사범대학 생물교육과

For the study of heat shock response in *Amoeba proteus*, we produced several monoclonal antibodies (mAbs) against heat shock proteins. One of the mAbs reacted with various proteins of mol. wt ranging from 60kDa - 200 kDa as shown by SDS PAGE and Western blotting. In immunofluorescence microscopy the antigens were localized as sporadic structures in nucleus and cytoplasm. On heat shock, the immunofluorescence dispersed all over the cytoplasm. We cloned and characterized the cDNA of the antigen by using the mAb as probe. By comparisons of the analyzed sequence data with those in database, the cDNA was found to code for ubiquitins in 5 repeats. In cloned *E. coli*, immuno-positive protein was 42 kDa as predicted. Ubiquitin is composed of 76 amino acids and well conserved protein among all eukaryotes. They are involved in various cellular regulations through selected proteolysis of specific proteins. The mAb had similar reactivity with the proteins of HeLa and HepG2 cells of human and macrophages of rat. Thus, the various bands shown in Western blotting are the ubiquitinated target proteins. We further studied the changes in ubiquitinated proteins on heat shock by comparing the immunoblots after 1 and 2 dimensional gel electrophoresis of amoebae proteins.