

제 목	국 문	카드뮴폭로에 대한 생물학적 지표. I. MT 분리정제 및 Anti-MT제조		
	영 문	Biological Index for Cadmium Exposure Group. I. Purification of MT and Preparation of Anti-MT Sera		
저 자 및 소 속	국 문	박 정덕, 정 영배*, 공 윤**, 이 우석, 최 병선, 홍 연표, 장 임원 중앙대학교 의과대학 예방의학교실·기생충학교실·한국과학기술원**		
	영 문	Jung Duck Park, Young Bae Chung, Yoon Kong, Woo Seog Lee, Byung Sun Choi, Yeon Pyo Hong, Im Won Chang		
분 야	환경 및 산업보건	발 표 자	박 정 덕	
발표 형식	구 연	발표 시간	15분	
진행 상황	연구완료 (√), 연구중 () → 완료 예정 시기 : 년 월			

1. 연구 목적

카드뮴에 폭로시 카드뮴의 독성에 대한 방어기전으로 생성되는 metallothionein(MT)을 비교적 간편하고 빠른 시간내 혈청과 요에서 정량함으로서 카드뮴폭로군에 대한 효율적인 색출검사방법을 마련하고자 한다.

2. 연구 방법

Sprague-Dawley male rat를 대상으로 rat체중 kg당 0.3mg/kg의 카드뮴을 2주 동안 피내주사한 후 적출한 간장으로부터 세포질분획을 분리한다. 이로부터 Sephadex G-75 column을 이용하여 Cd-binding protein(crude MT)을 분리후 anion-exchange column을 이용하여 MT-I 과 MT-II를 분리정제한다. 분리정제된 MT-I을 rabbit에 피내주사하여 면역된 rabbit로부터 anit-MT-I sera을 얻는다. 이때 anti-MT-I의 역가는 ELISA방법으로 측정하며, 항체의 특이성은 Western blotting하여 확인한다.

3. 연구결과

카드뮴을 2주간 피하주사한 랫트 간조직의 세포질분획을 Sephadex G-75 column 을 통과시켜 단백질분자량에 따라 얻은 분획중 카드뮴농도가 높게 나타난 분획(분자량 약 10kDa에서 peak, Cd-binding protein(crude MT))을 분리하여 전기영동한 결과 분자량 약 10kDa 에서 진한 band가 나타났다. Cd-binding protein분획을 anion-exchange column을 이용하여 얻은 분획에서는 2개의 카드뮴 peak를 나타내어 Cd-binding protein-I (MT-I), II (MT-II)로 분리하였으며, 전기영동상 둘다 분자량은 약 10kDa 에서 나타났다. 분리정제된 MT-I을 rabbit에 면역하여 얻은 혈청내 anti-MT-I의 역가는 ELISA방법으로 확인하였다. 이를 Western blotting한 결과, 면역하여 얻은 혈청(anti-MT-I)은 crude MT분획 및 부분정제된 MT-I분획에서 MT-I과 특이하게 반응하였고 MT-II분획과는 교차반응이 거의 일어나지 않았다.

4. 고찰

이번 연구에서 분리정제된 MT-I으로부터 생성된 anti-MT-I sera를 이용하여 ELISA방법 또는 RIA방법으로 비교적 간편하고, 신속하게 혈청 및 요중 MT량을 정량할 수 있는 방법을 도입함으로써 카드뮴폭로군에 대한 색출검사에 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.