P-112

모유지방구막의 주요구성성분인 GP-68당단백질의 간편한 정제

조 진 국 · Kanno Choemon* · 이 치 호 · 민 상 기 · 김 천 제 · 김 창 한
건국대학교 축산대학 동물자원연구센터, *일본 우쯔노미야대학 식품생화학(연)

PAS-5는 유선유래의 유지방구에 존재하는 주요한 구성단백질이다. 본연구는 모유의 유지방구막에 존재하는 PAS-5 단백질로 고찰되는 분자량 68,000의 당단백질(GP-68)을 간단히 정제하여 이 단백질의 몇가지 특성을 조사하려고 시행하였다.

실험방법은 성숙유로부터 조제한 buttermilk획분을 0.1M citrate buffer(pH 7.0)으로 washing한 후, 1.5% Tween 및 0.5% $C_{12}E_8$, 0.5M KCl을 포함하는 20mM Tris-HCl(pH 7.6)로 가용화하여 얻은 detergent fraction을 이후의 chromatography에 의한 정제에 이용하였다. detergent fraction을 Con A Sepharose affinity column에 주입하고, 결합한 단백질들을 0.25M α-Methyl-D-glucopyranoside로 용출하였다. GP-68이 농축된 당단백질 성분들을 polyethyleneglycol 4000로 침전시켜 2ml로 농축하였고, 이어서 16/60 Hi-Load Superdex gel filteration HPLC column에 주입하였다. 분리된 peak를 분취하여 마지막으로 정제된 GP-68획분을 얻었다.

GP-68은 막단백질로부터 선택적으로 추출되었고, 정제한 GP-68은 SDS-PAGE에서 단일한 band로 검출되었으며 분자량 68,000의 당단백질로 나타났다. N 말단측의 아미노산 배열을 분석하였을때, GP-68의 아미노산잔기 12개가 순서적으로 Lucinda등이 보고한 우유의 PAS-5 당단백질의 배열과 일치하였다. 또한 GP-68의 아미노산 조성은 PAS-5와 전체적으로 유사한 결과를 나타냈다.

그러므로, GP-68은 모유지방구피막에 존재하는 PAS-5임이 시사되었고, 본 연구결과는 유선내에서의 GP-68의 기능 및 유지방구막의 생성mechanism을 연구하는데 도움이 되리라 사료된다.