

Casein 단백질 유래 ACE Inhibitor Peptide의 부분 정제

김동운*, 정석근, 인영민, 함준상, 김현수, 채현석, 안종남, 김용근, 윤상기
농촌진흥청 축산기술연구소

Angiotensin-I converting enzyme(ACE)은 peptidyl dipeptide carboxylase로서 기질인angiotensin-I의 carboxyl terminal의 2개의 아미노산을 분해하여 강력한 혈관수축작용을 하는 펩타이드계 호르몬인 angiotensin-II의 생합성 작용을 촉매한다. 따라서 혈압 상승을 억제하기 위해서는 ACE의 활성부위에 inhibitor가 경쟁적으로 결합하여 angiotensin-I이 결합하지 못하게 함으로서 이 효소는 저해될 수 있다. 본 연구에서는 이 효소에 대하여 억제활성을 가진 펩타이드 혼합물을 제조하고 여기서 ACE inhibitor peptide를 찾고자 한다.

우유 카제인단백질을 효소를 사용하여 가수분해시킨 후 ACE저해활성을 갖는 펩타이드 혼합물을 제조하였고 이들의 평균분자량은 550dalton이고 IC₅₀값 215 μ g/ml이었다. 1차 정제로서 각각의 펩타이드가 가지는 고유의 pI 값의 차이를 이용하는 isoelectrofocusing 방법으로 ACE inhibitor 활성을 가지는 peptide 분획을 분리하였다. 이때의 분리 조건은 membrane pH를 Doctor pH software를 사용하여 3.5~9.5로 하였으며, 실험 후 동결건조 하여 ACE 억제율과 IC₅₀값을 측정하였다. pH 4.5~7.5사이에서 ACE 억제율과 IC₅₀값이 각각 70.25%, 95 μ g/ml로 나타났다. 다시 이들 분획을 모아 membrane pH를 4.5~7.5로 하여 위와 동일한 방법으로 실험하였더니 pH 6.0~6.5사이에서 ACE 억제율과 IC₅₀값이 각각 73.47%, 86 μ g/ml이었다. 따라서 ACE 억제활성을 가진 peptide들의 pI 값은 pH 6.0~6.5임을 알 수 있다. 또한 이들 분획을 펩타이드 구조가 가진 극성의 정도에 따라 더욱 분리, 정제하고자 reversed phase column(luna, C18, 250×10mm)을 설치한 HPLC를 사용하였다. 용매 A는 0.1% TFA를 함유하는 물, B는 0.1% TFA를 함유하는 acetonitrile을 사용하였으며 0~60%로 gradient를 걸었으며, 용매의 흐름은 2ml/min으로 하였다. 각각의 분획을 받아 건조후 ACE 억제율을 측정한 결과 약 14분의 분획에서 ACE 억제율 96.33%로 나타나 상당히 정제되었음을 알 수 있었다.