

사람 난포액에 존재하는 Matrix Metalloproteinase-2 Isoform의 동정

나경아, 김지수¹, 심명선¹, 권혁찬, 이승재², 윤용달³, 김해권¹

봄 여성병원 체외수정연구실, ¹서울여자대학교 생명공학과,
²미래와 희망 산부인과, ³한양대학교 생명과학과

포유동물의 암컷 생식기관에 존재하는 다양한 종류의 matrix metalloproteinase (MMP)는 난소와 자궁의 구성성분의 주기적인 변화를 조절하며 이중 난소의 MMP는 난포의 성장과 배란 그리고 퇴화 동안 조직재구성에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 본 실험에서는 근래에 새로 발견된 사람의 난포액에 존재하는 분자량 약 110kDa인 MMP-2 isoform GA110을 동정하고자 하였다.

난포액으로부터 GA110 단백질을 분리하기 위하여 난포액에 5mM ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)를 처리한 후 DEAE Sepharose Fast Flow를 이용한 chromatography를 시행하였다. 그 결과, 난포액 단백질들은 0.2M NaCl의 분획에서 GA110 활성을 나타내었고 anti-human MMP-2 antibody에 대한 면역반응도 뚜렷이 나타났다. DEAE Sepharose Fast Flow에서 얻은 분획 중 GA110의 활성과 면역반응을 모두 나타내는 분획만을 모아 Gelatin Sepharose 4B affinity chromatography로 다시 분리하였다. 분리한 결과 resin에 흡착된 단백질 (eluate) 분획들에서 매우 뚜렷한 GA110 gelatinase 활성을 나타내었으며 면역반응 또한 관찰되었다. 이 분획들의 단백질을 농축한 후 zymography를 시행하여 나타난 GA110 단백질 band를 잘라내었으며 이로부터 단백질을 electroelution하여 농축한 후 reducing agent인 2-mercaptoethanol을 처리하였다. 이를 전기영동 후 MMP-2 (propeptide region) antibody를 사용하여 immunoblotting 한 결과 70-72kDa의 단백질만이 면역반응을 나타내었다. 마지막으로 위와 같이 준비된 70-72kDa 단백질의 아미노산 서열을 Edman degradation 방법으로 분석하였다. 그 결과 이 단백질의 N 말단의 10개의 아미노산 배열 순서가 알려진 사람의 proMMP-2의 전체 배열순서 중 propeptide domain의 N 말단에서부터 다섯 번째에서 시작하여 10개의 아미노산의 서열과 정확하게 일치하였다.

위 결과들로 미루어 사람의 난포액에 존재하는 MMP-2의 새로운 isoform인 GA110은 70-72kDa의 proMMP-2가 disulfide bond를 통해 homodimer 구조를 이루고 있는 것으로 여겨진다.

Key words) *GA110, Zymography, Chromatography, Immunoblotting*