

임신타이단백질의 Screening 및 Purification

백광수, C. N. Lee*, Y. S. Kim*, 전병순, 정하연, 기광석, 임근발, 강수원

농촌진흥청 축산기술연구소 · 하와이주립대학교*

소의 황체 조직내 임신특이단백질의 유무를 확인하기 위하여 도축장 유래의 난소 황체를 Ireland 등(1980)의 방법에 따라 발정주기중의 황체를 CL1(발정주기 1~4일), CL2(발정주기 5~10일), CL3(발정주기 11~17일), 및 CL4(발정주기 18~20일)로 분류하였고 임신 황체는 임신일령을 추정하여 분류하였다.

황체 조직의 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 위하여 native binding buffer(20mM sodium phosphate, 500mM sodium chloride, pH 7.8)에서 homogenization한 후 원심분리하여 상층액을 이용하였다.

전기영동후 coomassie blue stain 및 silver stain을 실시한 결과 임신된 황체에서는 24.7kd에 해당되는 임신특이단백질(PSP)이 검출된 반면 임신이 되지 않은 황체에서는 PSP가 검출되지 않았으며 임신된 황체중에서 사멸된 수정란으로 추정되는 황체에서도 PSP가 검출되었다.

PSP의 다른 조직에의 존재 여부를 확인하기 위하여 cotyledon, caruncle, amniotic 및 alantoic fluid, follicular fluid를 검토한 결과 황체이외의 다른 조직에서는 PSP가 검출되지 않았다.

PSP의 purification을 위하여 elution buffer(50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, pH 8.0)로 수행된 gel filtration(flow rate:0.25mL/min., column:sepadex-100, OD:0.1, sample:700 μ l)에서는 PSP가 분리가 되지 않았고 elution buffer로 수행된 HPLC chromatography(flow rate : 0.25 mL/min., column:sepadex-75, OD:0.2, sample:25 μ l)에 의해서는 분리되는 양상을 나타내었다.

SDS-polyacrylamide gel에 의해 1mL 상층액과 1mL의 2x sample loading buffer를 혼합하여 loading하였고 gel의 1/6을 잘라내어 coomassie blue stain한 후 stain된 gel의 나머지 부분에 다시 붙여 24.7kd에 해당되는 band를 잘라낸 다음 3mL buffer가 든 20mL tube에서 homogenization함으로써 다량의 PSP의 분리가 가능하였다.

Key words) **젖소, 황체, 임신특이단백질, purification**