

B-3. PHSRN과 RGD 아미노산 서열을 포함하는 합성 올리고펩타이드가 조골양세포에 미치는 생물학적 영향

김태일*, 장준혁, 이용무, 류인철, 정종평, 한수부, 최상묵, 구 영
서울대학교 치과대학 치주과학교실

연구목적

Fibronectin은 주요 세포의 기질의 하나로서, 세포의 부착, 증식, 분화 및 이동 등 거의 모든 세포의 활동을 조절하고 통합하는 기능을 가지고 있는 거대 당단백이다. 그러나 실제 세포와의 부착은 일부의 motif에서 일어나고 있으며 그 중 Type III repeat의 10번째 도메인의 RGD가 주요 기능을, 인접한 9번째 도메인의 PHSRN 아미노산 서열이 부착과 관련한 시너지 효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 이 실험에서는 다양한 길이의 글라이신으로 연결된 PHSRN과 RGD를 포함하는 합성 올리고펩타이드를 설계, 제작하여 조골양세포(MG-63)의 부착, 증식 및 분화에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

연구방법

Solid phase 펩타이드합성기를 사용하여 PHSRN과 RGD 서열을 글라이신 3, 6, 9, 12개로 연결된 합성 올리고펩타이드 4종(G_3 PHSRNG $_3$ RGDG, G_3 PHSRNG $_6$ RGDG, G_3 PHSRNG $_9$ RGDG, G_3 PHSRNG $_{12}$ RGDG)을 고안, 제작하여 실험군으로 사용하였다. 이들을 PBS에 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μ M의 농도로 각각 용해시켜 96-well 세포배양용접시에 도포하였다. 배양된 MG-63 세포를 1×10^4 cells/well 의 농도로 각 well에 분주하여 37°C에서 1시간 배양을 하였다. 10% formaldehyde로 고정시키고 1% crystal violet으로 염색하여, 광학현미경으로 spreading assay를 시행하였으며, 2% SDS 처리 후 microplate reader기를 이용하여 570nm에서 혼탁정도를 측정하였다. 양성대조군으로는 fibronectin type III 9-10을, 음성대조군으로는 우혈청 알부민을 사용하였다. 동일한 방법을 이용하여 올리고펩타이드를 60mm² 배양접시에 도포하여 37°C에서 1시간 배양 후, 면역침전법을 통하여 세포신호전달분자인 MAPK의 활성화에 미치는 영향을 관찰하였다.

연구결과

1. 6개의 글라이신으로 연결된 합성올리고펩타이드(G_3 PHSRNG $_6$ RGDG)가 fibronectin type III 9-10 과 유사한 조골양세포의 부착정도와 부착양상을 나타내었다.
2. MAPK 활성화에서도 G_3 PHSRNG $_6$ RGDG 올리고펩타이드군에서 다른 군에 비해 fibronectin type III 9-10과 유사한 양상을 나타내었다.
3. G_3 PHSRNG $_6$ RGDG의 경우 10 μ M 이상의 농도에서 조골양세포의 부착정도, 부착양상 및 MAPK 활성도가 fibronectin type III 9-10과 가장 유사하였다.

본 연구에서 글라이신 6개로 연결된 PHSRN과 RGD 아미노산서열을 포함하는 합성올리고펩타이드의 생물학적 효과를 확인한 바, 향후 새로이 고안된 올리고펩타이드를 생체재료의 표면개질용 부착분자로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

주요어 : fibronectin, MAPK, MG-63 cell, oligopeptides, PHSRN, RGD