

Two-Dimensional Electrophoresis를 이용한 한우 난소의 황체단백질 특성 분석

우재현, 정학재, 김봉기, 최재혁, 박민영, 양병철, 박수봉, 성환후, 권무식¹, 장원경

농촌진흥청 축산기술연구소, 성균관대학교¹

한우 난소의 황체는 다양한 세포들로 구성되어 있으며 난소의 생식기능유지와 임신유지에 중요한 인자가 복잡하게 관련되어 있으며 이들 황체에서 분비하는 단백질은 황체기능에 필수적으로 중요한 작용을 한다. 본 연구는 난소의 황체일령에 따른 단백질 분비 패턴을 조사함으로써 황체세포의 기능과 임신 유지에 관련되는 인자들을 조사하기 위하여 수행하였다. 한우에서 채취한 난소에서 황체를 분리, 황체시기별(전기, 중기, 말기)로 구분하여 cytosol을 분리 정제하였다. 황체시기별로 분리된 황체 단백질의 성분을 분석하기 위해 ion-exchange chromatography를 이용하여 단백질 패턴을 조사, 추출된 fraction을 단백질 정량후 SDS-PAGE를 실시하였다. 그 결과 중기에서의 단백질의 농도가 가장 높았으며, 특히 단백질 패턴 또한 다른 양상을 보였다. 시기별로 구분한 각각의 fraction을 SDS-PAGE로 조사했을 때 중기와 말기황체 cytosol의 fraction 3번과 4번에서 다른 양상을 보였으며 SDS-PAGE에서 120kb, 95kb, 34kb, 25kb 등의 단백질 밴드를 확인할 수 있었다. 초, 중기황체에서만 특이하게 검출되는 단백질 band를 확인할 수 있었으며 이들 단백질을 구체적으로 확인하기 위하여 Two-Dimensional electrophoresis를 이용하여 실험을 수행하였다. 시기별로 분리된 황체를 일반적인 IEF단백질 분리법으로 cytosol을 회수한 후 IPG-system을 이용하여 1차원 전기영동을 한 후, SDS-PAGE로 이차원 전기영동을 실시하였다. 이차원 전기영동 결과, SDS-PAGE의 결과와 비슷한 위치에 부분적으로 다른 spot의 양상을 보였다. 특히 기능황체에서의 특이적 발현 spot을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들로부터 황체의 progesterone분비기능의 역할을 수행하기 위한 단백질들이 전, 중기에 발현된다는 것을 알 수 있고 퇴행황체에서는 발현이 안되고 있는 것을 알 수 있다. 이러한 결과를 토대로 다른 양상을 띤 spot을 분리하여 어떤 단백질인지를 분석하여 각각의 황체 단백질의 특성을 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

Key words) *Ion-exchange chromatography, Two-Dimensional electrophoresis, SDS-PAGE, 황체, 단백질*