

총 설

포유류 뇌의 미엘린 염기성 단백질에서 단백질-아르기닌 메틸화

박종옥[†] · 박형숙* · 김경순**

경성대학교 화학과
*경성대학교 생물학과
**명지대학교 화학과

Protein-arginine methylation in myelin basic protein from mammalian brain

Jong-Ok Park, Hyung-Sook Park* and Kyung-Soon Kim**

Department of Chemistry Kyungsung University, Pusan 608-737, Korea

**Department of Biology Kyungsung University, Pusan 608-737, Korea*

***Department of Chemistry, Myong-Ji University, Yongin 449-728, Korea*

Abstract

The synthesis and methylation *in vivo* of myelin basic protein(MBP) during the mouse brain development was found to be the highest in youngest brain and declined progressively in mature brains. The relative rate of protein synthesis and methylation was a maximal ratio in the youngest brain. This high ratio was well correlated with the higher protein methylase I (PM I) activity in younger brains.

The jimpy mouse is the most severely affected dysmyelinating mutant and is characterized by failure to incorporate MBP into myelin sheath. The MBP-specific PM I activity in 15-, 18-, and 21-days old hemizygous jimpy mice(jp/y) brains decreased by 20, 50 and 75%, respectively.

Myelin fraction with different degrees of compaction were isolated from bovine brain, the most compact myelin fraction exhibited higher methylaccepting activity than the less compact dense fractions.

Key words : myelin basic protein, protein-arginine methylation, protein-arginine methylase I.

서 론

세포내에서 합성된 단백질은 합성후 구조의 변형이 일어난다는 것이 잘 알려져 있으며 이러한 변형에는 methylation(메틸화), phosphorylation(인산화), acetylation(아세틸화), glycosylation(글리코실화) 등등이 있다.

단백질의 메틸화 반응은 원핵생물에서 진핵생물에 이르기까지 다양한 종류의 세포에서 일어나며 메틸기 주체로 S-adenosyl-L-methionine(AdoMet)을 이용한다. 메틸화는 리신, 아르기닌, 히스티딘, 글루타민 그리고 아스파라긴잔기의 곁사슬에서의 N-메틸화, 글루탐산 그리고 아스파르트산잔기의 카르복실기의 O-메틸에스테르화, 그리고 시스테인이

[†] Corresponding author

나 메치오닌잔기의 S-메틸화등이 있다. 이중에서도 리신, 아르기닌, 히스티딘, 그리고 디카복시 아미노산잔기의 메틸화 반응에 대한 것이 활발히 연구되어 있다.

이 메틸화반응은 여러종류의 methyltransferase들에 의해 일어난다는 것이 밝혀졌다¹⁾. 예를 들면 protein methyltransferase I(PMI; S-adenosyl-L-methionine : protein-arginine N-methyltransferase, EC 2.1.1.23)은 아르기닌 잔기의 guanidino기를, protein methyltransferase II(PMII; S-adenosyl-L-methionine : protein-carboxyl O-methyltransferase, EC 2.1.1.24)는 글루타밀 또는 아스파틸 잔기의

카르복실기를, 그리고 protein methyltransferase III(PM III; S-adenosyl-L-methionine : protein-lysine N-methyltransferase, EC 2.1.1.43)는 리신잔기의 ε-아미노기를 그리고 protein methyltransferase IV(PMIV; S-adenosyl-L-methionine : protein-histidine N-methyltransferase, EC 2.1.1.)는 히스티딘잔기를 메틸화한다(Table 1).

근래에 단백질의 메틸화가 생화학적, 세포학적 과정에서 중요하다는 것이 점차 밝혀지고 있어서 많은 연구자들의 연구대상이 되고 있다. 예를 들면 ε-N-trimethyl-L-lysine은 카르티닌 생합성의 전구체로 작용하며^{2),3)}, 사슬연장인자

Table 1. Protein methyltransferases

Trivial Name	Systematic nomenclature (E.C. number)	Methylation Product Amino acid and puoduct	Stability	
N-methylation	Protein methylase I	S-Adenosylmethionine : protein-arginine N-methyltransferase (EC 2.1.1.23)	Arginyl : N ^G -monomethyl- N ^G , N ^G -Dimethyl- N ^G , N ^G -Dimethyl	Stable in 6N HCl but unstable in 0.2N NaOH
	Protein methylase III	S-Adenosylmethionine : protein-lysine N-Methyltransferase (EC 2.1.1.43)	Lysyl : ε-Monomethyl- ε-N-Dimethyl- ε-N-Trimethyl-	Stable in both 6 N HCl and 0.2N NaOH
	Protein methylase IV	S-Adenosylmethionine : protein-histidine N-Methyltransferase	Histidyl : 3-N-methyl-	Stable in both 6 N HCl and 0.2N NaOH
O-methylation	Protein methylase II	S-Adenosylmethionine : protein-carboxyl O-methyltransferase (EC 2.1.1.24)	Glutamyl : Methyl ester Aspartyl : Methyl ester	t1/2=30 min at pH=7.1 at 37°C
		AdoMet : protein-D-aspartate O-methyltransferase (EC 2.1.1.77)	D-Aspartyl : methyl ester	t1/2=30 min at pH=7.1 at 37°C Unstable in both 6 N HCl and 0.2 N NaOH
S-methylation		S-Adenosylmethionine : protein-methionine S-methyltransferase	Methionyl : S-Methyl	Stable in acid but unstable in alkaline

EF-Tu의 Lys-56이 메틸화되면 tRNA-의존성 GTP의 가수분해 속도가 감소하게 되고⁴⁾, 카모돌린의 Lys-115가 메틸화되면 NAD-kinase의 활성화를 낮추게 되며⁵⁾, MCP(methyl accepting chemotactic protein)-글루타민 메틸에스테르화는 박테리아 화학주성에서 중요한 씨그날이 된다⁶⁾. 단백질-아스파틸 메틸에스테르화는 진핵세포의 노화과정에서 단백질의 수선이나 재이용에 중요하며⁷⁾, O⁶-methylguanine-DNAmethyltransferase중의 시스테인잔기는 DNA수선 기간중 메틸화된 DNA로부터 메틸기를 받는다는 것이 관찰되었고⁸⁾, cytochrome C의 리신 잔기가 메틸화되면 미토콘드리아와의 결합력이 강화되며⁹⁾, 미엘린염기성 단백질(myelin basic protein, MBP)의 arg-107가 메틸화되면 미엘린형성이 촉진된다¹⁰⁾는 것이 알려져 있는 등 이 외에도 수많은 작용들이 깊게 연구되어 있다.

본 총설에서는 지난 30여년간 포유류 뇌 MBP를 대상으로 연구 발표된 protein-arginine methylation의 생체내에서의 역할에 대하여 고찰해 보고자 한다.

Protein arginine methylase (PM I ; EC 2.1.1.23)

단백질 중에 있는 아르기닌 잔기를 메틸화하는 반응은 메틸기 주개로 AdoMet를 이용하여 PM I에 의해 촉매된다. 이 효소는 1968년 소의 흉선에서 처음으로 발견되었고 주로 cytosol에 존재하며 핵에서도 미량 발견된다¹¹⁾. PM I은 포유류 기관중에 널리 분포하며 고환, 뇌, 흉선, 비장, 신장 그리고 간 등에 존재하며 조직세포의 cytosol에서 주로 작용한다¹²⁾. 뇌의 막 분획에 상당량의 효소를 포함하고 있다는 연구결과도 많다^{13),14)}.

효소반응의 결과로는 세 가지의 메틸화된 아르기닌 유도체 : N^G-monomethylarginine [MMeArg], N^G,N^G-dimethyl arginine [Di(sym)MeArg] 그리고 N^G,N^G-dimethylarginine [Di(asym)MeArg]가 생성된다(Fig. 1)¹⁵⁾. 효소산물 N^G-methylarginine은 알칼리성에서 불안정하여 2M NaOH로 가수분해할 때 methylurea 와 methylamine을 유리하게 된다. AdoMet에서 메틸기가 제거된 S-adenosyl-L-homocystein은 AdoMet-dependent transmethylation 반응의 저해제로 작용한다¹⁶⁾. 그래서 protein-arginine methyltransferase 반응을 확인하는 물질로 이용되기도 한다.

자연계에서 메틸화된 아미노산을 포함하고 있는 단백질은 MBP, nuclear 단백질, 수축근 단백질처럼 주로 구조단

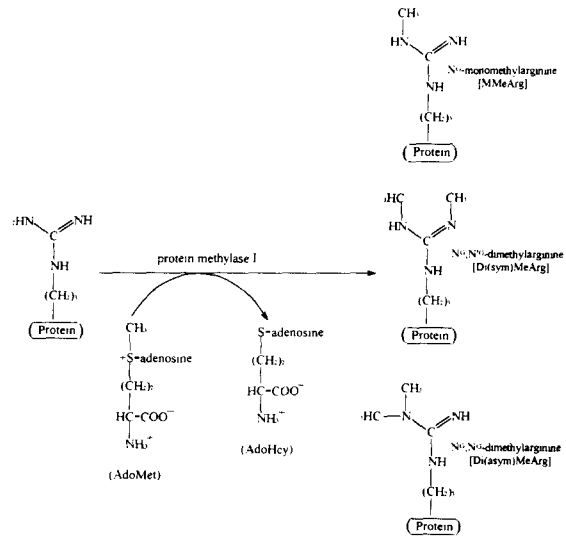


Fig. 1. Reaction of protein methylase I.

백질이거나 막단백질이다. 메틸화반응은 메틸화되는 부위 주변의 아미노산 서열에 특이성을 갖는다. MBP중에 있는 18개의 아르기닌 잔기중 서열 Lys-Gly-Arg-Gly-Leu로 되어 있는 107번 잔기 Arg만이 MMeArg 과 Di(sym)MeArg 혼합물로 존재한다¹⁰⁾. Di(asym)MeArg잔기를 갖고 있는 nonhistone 핵단백질인 nucleolar protein C23은 글리신 cluster와 페닐알라닌이 산재해 있다¹⁷⁾.

PM I 활성도 측정은 TCA(trichloroacetic acid) 침전법이 사용되고 있으나 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay) 방법을 사용할 경우 TCA방법에 비해 약 280배 정도 더 sensitive하게 측정할 수 있다¹⁸⁾.

Myelin 과 Myelin basic protein

미엘린은 중추신경계나 말초신경계의 신경섬유를 둘러싸고 있는 여러겹으로 된 막구조로서 사람 혹은 소의 신경조직에서 분리한 미엘린은 약 80%가 지방이며 20%는 단백질이다. 단백질 분획의 50%가 proteolipid, 30%는 MBP 그리고 20%는 고분자의 Wolfgam 단백질로 되어있다¹⁹⁾. 소 또는 사람의 뇌 혹은 척수에서 분리한 MBP는 같은 성질을 가지고 있고 분자량이 18400(170 amino acids)을 갖는 단일사슬 polypeptide로서 높은 염기성을 가지고 있으며 pI가 10.6이다²⁰⁾. 또한 이 분자는 많은 양의 프롤린을 가지고 있어 분자자체가 열려 있기 때문에 빨리 분해되는 성질을 가지고 있다(Fig. 2).

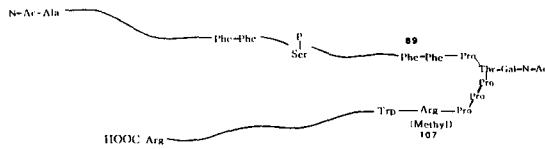


Fig. 2. Schematic representation of MBP in the hair-pin configuration.

미엘린을 CM-52 chromatography로 분리할 때 몇 종류의 charge isomer가 생성된다. MBP 분자의 이러한 다양성은 단백질 합성후 몇몇 종류의 변형반응, 즉 인산화반응, 탈아미드반응, 메틸화반응, 글리코실화반응 그리고 C-말단 아르기닌손실등 때문이다. 이들 변형반응의 대부분은 thr-95(글리코실화)과 arg-107(메틸화) 사이에서 일어나며 99~101번 잔기에 있는 세 개의 연속된 프롤린을 통하여 이중사슬 hair-pin 구조가 만들어져서 미엘린 막 중의 인지질과 강하게 결합하는 것이다.

설치류(쥐, 다람쥐)에는 여러 종류의 MBP가 있으며 그 분자량이 34, 30, 29, 23.6, 21, 17 그리고 14.5 KDa을 나타내고 있다²¹⁾. 이들은 모두 MBP항체에 대하여 면역활성을 나타낸다. 그리고 미엘린 MBP는 여러 종류의 단백질 분해 효소가 같이 결합하여 있다는 것이 알려져 있다.

MBP는 Res-107에 N^G-methylarginine을 가지고 있는데 이것은 PMI 에 의해 생성된다²²⁾. 메칠 아르기닌은 MMeArg, Di(sym)MeArg 그리고 Di(asym)MeArg의 혼합물들로 존재하고 있고, MBP중에 존재하는 아르기닌과 메칠화된 아르기닌과의 比, 메칠 아르기닌의 종류등은 각 단백질종마다 차이가 있다^{15),17)}.

MBP 메칠화와 myelin formation

사람의 MBP는 170개의 아미노산잔기로 이루어져 있고 이중에 111번에서 121번에 이르는 부분이 뇌염발생 결정소(determinant)이다²²⁾. Res-107 N^G-methylarginine은 이 결정소 구역에 아주 가깝다. Res-99, -100 그리고 -101 번에는 세 개의 프롤린잔기가 있어서 단백질 구조를 구부리게 할 수 있다(Fig. 2). Young은 Res-107 arginine의 메칠화가 단백질의 double chain 형태를 안정화시키는 한 역할을 하여 미엘린단백질과 비극성 지질과의 결합에 도움을 주어 myelin을 형성하는 것이라 하였다²³⁾.

MBP의 메칠화가 미엘린의 완성과 유지에 중요한 역할을 한다는 증거는 subacute combined degeneration(SCD)증세가 있는 동물의 관찰에서 밝혀졌다²⁴⁾. SCD는 비타민 B₁₂ 결핍증을 갖고 있는 사람에서 나타나며 척수의 myelin sheath가 변성되어 일어난다²⁵⁾. Nitrous oxide(N₂O)는 동물에서 메치오닌 합성을 억제하는 화합물이다. 실험적으로 mouse²⁵⁾ 나 원숭이²⁴⁾를 N₂O gas를 포함하는 대기중에 노출시켜 놓으면 SCD가 나타난다. 즉 원숭이를 15% N₂O를 함유한 대기에 10주동안 놓아 두면 약 2~3주이상 운동실조가 되어 신경적으로 순조롭지 못한 상태로 병이 진행되다 거의 죽어가는 상태로 된다. 그러나 먹이에 메치오닌을 공급해 주면 위와 같은 증세가 나타나지 않게 된다. 그 후 실험동물의 척수나 말초신경 절편을 전자현미경으로 조사해 본 결과 메치오닌을 공급해준 것과 공급하지 않은 원숭이의 임상적, 조직학적 변화가 확실히 달랐다.

Small등²⁵⁾은 쥐의 뇌에서 cycloleucine이 AdoMet합성 작용을 억제하여 MBP의 메칠화를 억제한다는 사실을 보고한 바 있다.

Jacobson등²⁶⁾은 mouse에 cycloleucin을 투여하여 SCD와 거의 비슷한 신경학적 변화와 조직학적 변화를 갖게 하였다. cycloleucin은 메치오닌 유사체로 AdoMet 합성을 포함하는 여러가지 메치오닌-dependent 과정이나 세포전달과정을 억제하는 화합물이다. AdoMet은 생물체내에서 여러 고분자중 단백질을 메칠화하는 메칠기 공여체이다. cycloleucine은 *in vivo*실험에서 메칠기가 N^G-methylarginine으로 되지 못하게 하여 즉 MBP의 메칠화를 억제하여 신경장애를 일으키게 하는 것이다.

뇌성장 중의 PMI 활성화

mouse brain에서 미엘린형성은 두 단계로 일어난다. 첫 단계(생후 약 5~15일)에서는 oligodendroglial cell의 증식, 세포의 확대 그리고 원형질막 형성이 일어나며 두째 단계(생후 약 16~30일)에서 미엘린이 인식되며 약 20일째에서 lamellae가 최대로 침적된다²⁷⁾. 미엘린이 형성되는 동안은 MBP의 메칠화반응이 수반될 것이다. 이러한 사실로부터 뇌가 성장하는 동안 MBP-specific PMI 활성화에 따르는 methylation pattern이 추적될 수 있다.

Chanderker등²⁸⁾은 mouse뇌의 성장이 진행되는 동안 MBP의 합성과 메칠화 반응에 관한 연구를 하였다. 생후

Table 2. Incorporation of L-[Methyl-³H]Methionine into Mice Brain MBP

Age of animal (days)	Component ^a	Amount of MBP (mg/ten mouse brains)	[³ H]-incorporation (dpm/mg)
13	1	0.162	23682
	2	0.167	12768
	3	0.173	20590
20	1	0.486	13900
	2	0.381	11600
	3	0.091	9400
33	1	1.130	901
	2	0.743	916
	3	0.161	510
45	1	2.010	401
	2	1.230	341
	3	0.144	070
60	1	1.640	923
	2	1.070	786
	3	0.243	813

^aThe numbers, 1, 2 and 3 indicate the MBP components. Amount of MBP was estimated by using the absorption coefficient of 5.89(1% solution) at 276 nm.

Table 3. Incorporation of L-[Methyl-³H]Methionine and L-[³⁵S]Methionine into Protein Fractions during Mouse Brain Development

Age of animal (days)	³ H/ ³⁵ S		
	Acid extract	Breakthrough	MBP fraction
13	3.8	3.4	9.1
17	3.7	3.7	9.4
21	3.8	3.5	5.7
49	3.8	3.3	7.5
59	3.5	3.3	6.9

The ratio ³H/³⁵S (methylation index) was calculated by counting the fractions in a liquid scintillation counter programmed for dual - label counting.

13일에서 60일까지 연령의 각기 다른 mouse 뇌에 L-[methyl-³H]methionine을 주사하고 18시간 후 뇌의 "acid extracts"로 부터 NaCl gradient 하면서 CM-52 chromatography상에서 3종류의 MBP를 분리하였다. 각 MBP 분획에

서 나타내는 방사능 값은 Table 2에서 보는 바와 같이 미엘린 형성과 단백질합성이 활발한 어린 쥐에서 크게 나타났고 성숙된 쥐에서는 감소되었다. 성분1은 뇌의 주요 speci인 분자량 14KDa인 MBP이고 2와 3은 그 보다 큰 MBP의 혼합성분이다. MBP의 단백질 뼈대 합성과 메틸기 결합정도를 확실히 알아보기 위해 이중 방사성 표지 기술을 사용했다. 즉 뼈대 합성을 보기위해서는 L-[³⁵S]-메치오닌을, Ado[methyl-³H]Met을 통한 뼈대 합성과 메틸화반응을 보기위해서는 L-[methyl-³H]메치오닌을 사용했다. MBP 내 부로 결합된 ³H/³⁵S 비값은 "methylation index"를 제공해 준다. 비값이 클수록 methylation량이 클수록 뜻한다. Table 3에서 보는 바와 같이 "acid extracts"와 "breakthrough" 분획의 ³H/³⁵S 값은 처음 주사했을 때의 값 3.6과 거의 같은 값으로 나타나지만 MBP fraction에서는 항상 높은 값을 나타냈다. 미엘린 형성과 단백질 합성이 최고인 17일째의 경우에서 가장 큰 값을 나타내고 그 후에는 감소되어 성숙된 쥐에서는 6~8정도 남아있게 된다. 이 높은 값은 뇌가 성장하는 동안 MBP-뼈대 합성과 함께 methylation도

Table 4. Protein Methylase I Activity in Jimpy mutant and Normal Mice Brain Supernatant

Age (Days)	Substrate protein used	Specific activity ^a		
		Normal ^b	jp/y ^c	jp/ ^{+/c}
12	MBP	0.260	0.270	0.230±0.050
15	MBP	0.360±0.200	0.290±0.020	0.150±0.010
18	MBP	0.570	0.300±0.050	0.530
21	MBP	0.290±0.030	0.073±0.040	0.350±0.040

^aSpecific activity is defined pmol of methyl groups transferred/min/mg protein.

^bNormal indicated C57B1 strain normal littermates.

^cjp/y and jp/^{+/c} represent jimpy homozygous and heterozygous(phenotypically normal), respectively.

Table 5. Protein Methylase I Activity in Shiverer Mutant and Normal Mouse Whole Brain Homogenates

Age (days)	Substrate protein used	Specific activity ^a	
		Normal ^b	shi/shi
12	MBP	0.17±0.04	0.34±0.03
15	MBP	0.20±0.07	0.38±0.04
18	MBP	0.26±0.03	0.30±0.03
21	MBP	0.16±0.04	0.21±0.03

^aExpressed as pmol of(methyl-¹⁴C) transferred/min/mg enzyme protein±SD.

^bB6C3 strain normal littermates and shiverer mutant (shi/shi).

^cValues are the average of six brains assayed independently.

PMI활성을 측정해 본 결과 15-, 18-, 21일 된 쥐에서 정상쥐의 20, 50, 75% 감소되어 있음을 보고하였다(Table 4). 또 다른 hypomyelinating mutant인 shiverer mouse에서도 PMI 활성의 변화형태를 나타내는데 jimpy mouse와 아주 다른 결과가 얻어진다(Table 5). Shiverer mutant에서의 활성은 미엘린 형성개시때(12일째)는 정상쥐보다 두 배 높은 값을 보이지만 미엘린형성이 진행되면서(15~18일 기간)는 갑자기 감소함을 나타낸다. 보다 어린 Shiverer brain 중에서 높은 MBP-PMI 활성을 보이는 이유는 아마도 Shiverer 뇌 중에 있는 oligodendrocyte 수가 증가하는 것과 관계 있는 것 같다(Knover). 미엘린이 부족한 mutant인 quaking mouse는 MBP양은 작지만 정상 수명을 다 누리는 것으로 알려져 있고 뇌 중의 PMI 활성도 정상범위와 같은 을 보여 준다.

높게 일어난다는 것을 뜻한다. 이 결과들은 MBP-arginine 메틸화 반응이 실제로 미엘린형성과 연결된 과정이라는 것을 강하게 보여 준다.

dysmyelinating mutant brain에서 PMI 활성도

미엘린 구조나 성분 그리고 미엘린 대사가 비정상인 dysmyelinating mutant mouse들(jimpy(jp), quaking, myelin deficient 그리고 shiverer)은 그 뇌 중에 이유는 각기 다르지만 myelin 양이 감소되어 있는 특징들이 있다²⁹⁾. 이 중에도 jimpy mouse가 가장 미엘린 형성이 불량한 mutant이며, 미엘린 수초로의 MBP결합도 부족하다³⁰⁾.

Kim 등³¹⁾은 연령이 다른 jimpy mouse 뇌중의 MBP-

미엘린 형성중의 MBP 양과 PMI 활성도

대부분의 액손(axon)은 신경충격의 전도 속도를 증가시키기 위해 미엘린 막에 의해 둘러싸여 있다. 미엘린의 주단백질 중의 하나인 MBP는 인지질 이중층에 강하게 결합하여 미엘린 막을 형성한다. 미엘린 막은 oligodendroglial plasma membrane 상태, multilamellar myelin 상태, 또는 질병으로 sheath가 변성이 되어있는 상태 등에 따라 여러 가지 조밀도(compactness)를 갖는다³²⁾.

Ghosh³³⁾등은 calf brain의 백질(white matter)로 부터 불연속 sucrose-density gradient 원심분리방법을 이용하여 높은 multilamella 구조를 하고 있는 compact 미엘린(보통 미엘린이라 함)과 두 가지의 보다 적은 lamellae로 되어

있는 less compact(또는 dense)미엘린을 분리하였다. 이들은 생화학적으로 뿐만 아니라 형태학적으로도 구별이 된다 (Fig. 3).

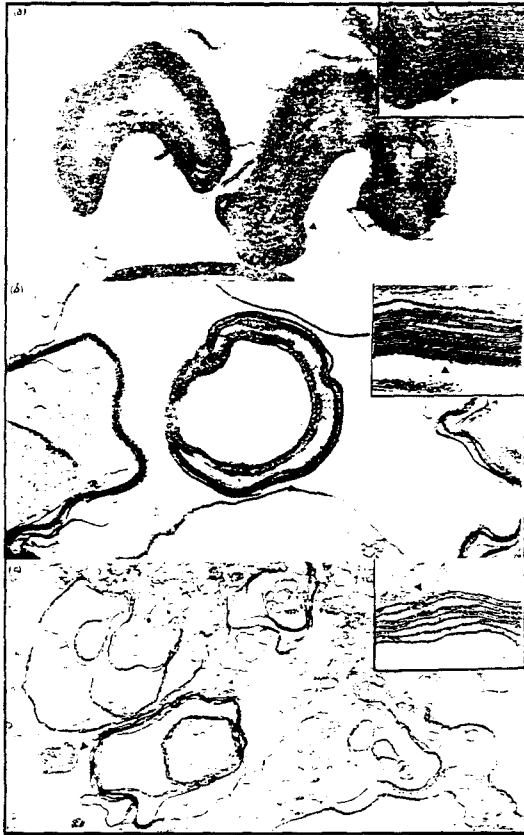


Fig. 3. Electron micrographs of myelin and myelin-like membranes obtained by density-gradient fractionation
Calf brain white matter was fractionated by discontinuous sucrose-density-gradient fractionation. The membranes were briefly washed once with distilled water before fixation. (a) Myelin fraction at 0.25 M/0.88 M sucrose interface. (b) P₃A fraction at 0.25 M/0.80 M sucrose interface. (c) P₃B fraction at 0.80 M/1.0 M sucrose interface. Magnification : lower, $\times 22000$; higher, $\times 110000$ (inset).

그림에서 보는 바와 같이 가뭉고 compact한 미엘린 분획 (Fig. 3a)은 less compact 미엘린(Fig. 3b와 3c)보다 많은 lamellae를 갖고 있다. 미엘린, P₃A 그리고 P₃B fraction에서 단백질을 추출하여 SDS/PAGE한 결과 전체 단백질 중의 MBP함량이 각각 37%, 28%, 1.8% 정도로 나타나고 있어 lamellae의 수와 MBP양 사이에 밀접한 관계가 있음을 보여준다.

서로 다른 조밀도를 갖는 위의 세가지 subfraction중의 MBP를 막에 결합되어 있는 상태와 추출된 상태로 나누어 메틸기 수용능을 측정해 보았다. Table 6에서 보는 바와 같이 가장 조밀한 미엘린의 MBP가 덜 조밀한 분획 P₃A나 P₃B보다 메틸기 수용능력이 크다는 것을 알 수 있다. 그리고 P₃B의 경우를 제외하고는 결합상태에서 보다 추출된 상태에서의 MBP가 일반적으로 보다 큰 메틸기 수용능력을 갖는다는 것을 보여 준다. 이것은 막 성분중에 MBP와 PM I 과의 상호작용을 막는 어떤 물질이 있기 때문으로 생각할 수 있다.

Table 6. Methylation of membrane-bound and extracted MBP

In all experiments, 7 μ g of MBP(membrane-boune or extracted) was incubated with 3.0 μ g of purified MBP-specific PM I at 45 $^{\circ}$ C for 60 min. The methyl-¹⁴C incorporation into MBP was analysed by the trichloroacetate-precipitation method as described previously(Chanderkar²⁸) et al). Data are means \pm S.E.M. of three independent experiments. The values in parentheses are percentages of activity with myelin.

Fraction	methyl- ¹⁴ C incorporation(pmo)	
	Membrane-associated	Extracted
Myelin	15.1 \pm 1.6(100)	28.5 \pm 1.7(100)
P ₃ A	5.3 \pm 0.59(35.1)	16.6 \pm 1.1(58.2)
P ₃ B	6.0 \pm 0.42(39.7)	5.9 \pm 0.42(20.7)

결 론

중추신경계나 말초신경계의 신경섬유를 둘러싸고 있는 미엘린은 여러 겹으로 된 막구조를 하고 있다. MBP는 미엘린의 단백질성분중 약 30~40%를 차지하는 주요 단백

질이며, MBP의 아미노산서열중 107번에 위치하는 N^ε-methylarginine은 PM I의 촉매작용에 의해 만들어진다. 아르기닌이 메틸화되면 분자내 양이온 성격이 줄어들고 따라서 소수성이 증가하게 되고, 이것은 다시 미엘린단백질과 미엘린 막중의 지질층과의 결합을 도와주는 역할을 하는 것이다.

MBP-PM I 활성도와 뇌의 성장/미엘린형성과의 상관 관계가 많이 연구된 바 본문에서 보는 바와같이 MBP 합성과 더불어 메틸화반응도 같이 일어남이 확인되었고 이것은 MBP-arginine 메틸화반응이 실제로 미엘린형성과 연결된 과정이라는 뜻이다. 그러므로 뇌 성장이 활발한 시기(생후 약 20일경)에서 PM I 활성이 높을 것이다. Dysmyelinating mutant brain에서는 PM I 활성이 정상쥐에서 보다 낮게 나타나는데 이것은 PM I의 부족으로 온전한 미엘린 형성이 이루어지지 못 할 것이므로 신경자극의 전달도 불완전할 것이다.

Dysmyelinating mutant의 MBP는 미엘린 막에서 유리되게 되며 단백질 분해효소에 의해 분해되어 MBP-fragment나 유리상태의 아미노산으로 체액(혈청, 척수, 소변 등)에서 발견된다³⁴⁾. 변형(메틸화 등)된 아미노산은 단백질합성에 재이용되지 않으므로 체액으로 배설되는 아미노산 유도체를 분석할 수 있다. 이러한 이유로 신경계 질환자의 진단과 치료에 PM I을 이용해 보려는 노력이 꾸준히 시도 돼 왔다^{34),35),38)}. 근래에는 ELISA법을 이용하여 미량의 효소도 검출할 수 있게 되었고¹⁸⁾, O-phthaldialdehyde와의 반응을 연계시킨 HPLC로 용출되는 아미노산을 더 정확히 분석할 수 있게 되었다. 그 결과 이전에는 초기상태의 미엘린이나 mutant brain MBP에서 검출되기 어려웠던 Me₂(asym)Arg도 쉽게 검출되고 있다³⁹⁾. 이에 대한 연구가 더욱 진행된다면 현재 세계적으로 활발히 수행되고 있는 뇌 질환 치료에 일조를 할 수 있을 것이라 믿어 의심치 않는다.

감사의 글

이 논문은 저자가 미국 Temple 의과대학 FELS 연구소에 파견되었을 때 그 곳 김상덕 교수의 도움으로 연구되었던 것을 참고로 한 것으로 이에 감사의 뜻을 표하는 바입니다.

참고문헌

1. Paik, W. K. and Kim, S. : Protein methylation : chemical, enzymological, and biological significance, In *Advances in Enzymology*(Meister, A. ed.) Academic Press, New York(1980).
2. Paik, W. K., Nochumson, S., and Kim, S. : Carnitine biosynthesis via protein methylation, *TIBS*. 2. 159 (1977).
3. La Badie, J. H., Dunn, W. A. and Aronson, N. N. : Hepatic synthesis of carnitine from protein-bound trimethyllysine, *Biochem. J.*, 160, 85(1976).
4. Van Noort, J. M., Kraal, B., Sinjorgo, K. M. C., Persoon, N. L. M., Johanns, E. S. D. and Bosch, L. : Methylation *in vivo* of elongation factor EF-Tu at lysine-56 decrease the rate of tRNA-dependent GTP hydrolysis, *Eur. J. Biochem.*, 160, 557(1986).
5. Roberts, D. M., Rowe, P. M., Siegel, F. L., Lukas, T. J. and Watterson, D. M. : Trimethyllysine and ptein function, *J. Biol. Chem.*, 261, 1491(1986).
6. Kleene, S. J., Toews, M. L. and Adler, J. : Isolation of glutamic acid methylester from an *E. Coli*. membrane protein involved in chemotaxis, *J. Biol. Chem.* 252, 3214(1977).
7. Clarke, S. and O'Connor, C. M. : Do eukaryotic carboxyl methyl transferases regulate protein function? *Trend Biochem. Sci.*, 8, 391(1983).
8. Olsson, M. and Lindahl, T. : Repair of alkylated DNA in *Escherichia coli*, *J. Biol. chem.*, 255, 10569 (1981).
9. Paik, W. K., Farooqui, J. Z., Gupta, A., Smith, H. T. and Millett, F. : Enzymatic trimethylation of lysine - 72 in cytochrom C, *Eur. J. Biochem.*, 135, 259 (1983).
10. Baldwin, G. S. and Carnegie, P. R. : Specific enzymatic methylation of an arginine in the experimental allergic encephalomyelitis protein from human myelin, *Science*, 171, 579(1971).
11. Paik, W. K. and Kim, S. : Protein methylase I. Purification and properties of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 243, 2108(1968).
12. Paik, W.K. and Kim, S. : Protein methylation, In *Biochemistry : A series of Monographs*, Vol. 1, 176, John Wiley & Son, New York,(1980).
13. Jones, G. M. and Carnegie, P. R. : Methylation of myelin basic protein by enzymes from rat brain, *J. Neurochem.* 23, 1231(1974).
14. Miyake, M. : Methylases of myelin basic protein and histone in rat brain, *J. Neurochem.* 24, 909,

- (1975).
15. Nakajima, T., Matsuoka, Y. and Kakimoto, Y. : Isolation and Identification of N^G-monomethyl, N^G,N^G-dimethyl-and N,N^G-dimethylarginine from the hydrolysate of proteins of bovine brain, *Biochim. Biophys. Acta*, **230**, 212(1971).
 16. Deguchi, T. and Barchas, J. : Inhibition of transmethyations of biogenic amines by S-adenosylhomocysteine, *J. Biol. Chem.*, **246**, 3175(1971).
 17. Lischwe, M. A., Cook, R. G., Ahn, Y. S., Yeoman, L. C. and Busch, H. : Clustering of glycine and N^G, N^G-dimethylarginine in nucleolar protein C23, *Biochemistry*, **24**, 6025(1985).
 18. Rawal, N., Paik, W. K. and Kim, S. : An enzyme-linked immunosorbent assay for myelin basic protein-specific protein methylase I, *J. Neurosci. Methods*, **37**, 133(1991).
 19. Eylar, E. H. : The structure and immunologic properties of myelin, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **195**, 481,(1972).
 20. Eylar, E. H. : Amino acid sequence of the basic protein of myelin membrane, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **67**, 1425(1970).
 21. Yu, Y. T. and Campagnoni, A. T. : *In vitro* synthesis of the four mouse myelin basic proteins : evidence for the lack of a metabolic relationship, *J. Neurochem.*, **39**, 1559(1982).
 22. Carnegie, P. R. : Properties, structure and possible neuroreceptor role of the encephalitogenic protein of human brain, *Nature*, **229**, 25(1971).
 23. Young, P. R., Vacante, D. A. and Waickus, C. M. : Mechanism of the interaction between myelin basic protein and the myelin membrane : the role of arginine methylation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **145**, 1112(1987).
 24. Scott, J. M., Dinn, J. J., Wilson, P., Weir, D. G. : Pathogenesis of subacute combined degeneration : a result of methyl group deficiency, *Lancet*, **2**, 334(1981).
 25. Small, D. H., Carnegie, P. R. and Anderson, R. McD. : Cycloleucine-induced vacuolation of myelin is associated with inhibition of protein methylation, *Neurosci. Lett.*, **21**, 287(1981).
 26. Jacobson, W., Grandy, G., Disman, R. L. : Experimental subacute combined degeneration of the cord in mice, *J. Pathol.*, **109**, 243(1973).
 27. Campagnoni, A. T., Campagnoni, C. W., Bourre, J.-M., Jacque, C. and Baumann, N. : Cell-free synthesis of myelin basic proteins in normal and dysmyelinating mice, *J. Neurochem.*, **42**, 733(1984).
 28. Chanderkar, L. P., Paik, W. K. and Kim, S. : Studies on myelin basic protein methylation during mouse brain development, *Biochem. J.*, **240**, 741(1986).
 29. Hogan, E. L. : Animal models of genetic disorders of myelin, In : Myelin(Morell, P., Ed.), Plenum Press, New York(1977).
 30. Campagnoni, A. T., Campagnoni, C. W., Huang, A. L. and Sampugna, J. : Developmental changes in the basic proteins of normal and jimpy mouse brain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 700(1972).
 31. Kim, S., Tuck, M., Kim, M., Campagnoni, A. T. and Paik, W. K. : Studies on myelin basic protein-protein methylase I in various dysmyelinating mutant mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **123**, 468(1984).
 32. Whitaker, J. N. and Snyder, S. D. : *CRC Crit. Rev. Clin. Neurobiol.* **1**, 45~48(1985).
 33. Ghosh, S. H., Rawal, N., Syed, S. K., Paik, W. K. and Kim, S. : Enzymatic methylation of myelin basic protein in myelin, *Biochem. J.*, **275**, 381(1991).
 34. Yudkoff, M., Nissim, I., Pereira, G. and Segal, S. : Urinary excretion of dimethylarginines in premature infants, *Biochem. Med.*, **32**, 242(1984).
 35. Whitaker, J. N. : Indicators of disease activity in multiple sclerosis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **436**, 140(1984).
 36. Pavarotti, V., Merell, E., Depalma, M., Bettelli, G., Fraglioni, P. : Myelin basic protein in the CSF of patients with multiple sclerosis, optic neuritis and various neurological diseases, *Acta Neurol. Belg.* **86**, 311(1986).
 37. Park, J., Greenstein, J. I., Paik, W. K. and kim, S. : Studies on protein methyltransferase in human cerebrospinal fluid, *J. Mol. Neurosci.*, **1**, 151(1989).
 38. Rawal, N., Lee, Y. J., Whiraker, J. N., Park, J. O., Paik, W. K. and Kim, S. : Urinary excretion of N^G-dimethylarginines in multiple sclerosis patients : preliminary observations, *J. Neurol. Sci.*, **129**, 186(1995).
 39. Rawal, N., Lee, Y. J., Paik, W. K. and Kim, S. : Studies on N^G-methylarginine derivatives in myelin basic protein from developing and mutant mouse brain, *Biochem. J.*, **287**, 929(1992).