

등근성게, *Strongylocentrotus nudus* 배에 존재하는 Polysialyltransferase의 특성 및 발현 조절에 관한 연구

남지훈 · 김영대* · 박영제* · 조진원[§]

연세대학교 이과대학 생물학과

*국립수산진흥원 강릉수산종묘배양장

Characterization and Developmental Regulation of Polysialyltransferase from Embryos of *Strongylocentrotus nudus*

Ji-Huen Nam, Young-Dae Kim*, Young-Je Park* and Jin-Won Cho[§]

Department of Biology, College of Natural Sciences, Yonsei University, Seoul 120-749

*Kangnung Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency, Chumunjin 210-800, Korea

요 약 : 폴리시알린산 (polysialic acid)은 미생물로부터 인간에 이르기까지 다양한 세포의 세포 표면 복합당사슬에 공유 결합하는 당사슬의 일종이다. 최근 성게 난자의 켈리층과 성게 난자의 표면에서 폴리시알린산이 연결된 당단백질이 발견됨으로써 폴리시알린산의 생합성과 그 기능에 대한 의문이 제기되었다. 등근성게의 난자와 배에서 추출한 효소액과 CMP-[¹⁴C]Neu5Ac를 기질로 사용하여 Neu5Ac를 endogenous acceptor에 전달하는 CMP-Neu5Ac:poly- α 2, 8 sialosyl sialyltransferase (polyST)를 발견하였다. polyST는 20mM MOPS (pH 7.0), 20°C에서 최적 활성을 나타냈다. 10 mM Mg²⁺를 효소 반응액에 첨가하면 polyST의 활성은 2.7배 증가하였다. polyST는 또한 포유류의 ganglioside인 GD3에 폴리시알린산을 합성할 수 있었다. 이와 같은 폴리시알린산이 존재하는 ganglioside가 현재까지 자연계에서 알려진 바가 없다는 사실은 하나의 polyST가 endogenous acceptor와 ganglioside에 폴리시알린산을 합성했다고 결론지을 수 있다. 과량의 GD3를 exogenous acceptor로 사용하여 등근성게에 존재하는 polyST의 활성을 조사한 결과 mesenchyme 포배기 때부터 그 활성이 급격히 증가하고 낭배기 때에 최고에 도달했다. 성게의 배발생 때에 polyST의 활성이 조절된다는 것은 낭배기 때에 일어나는 세포나 조직 사이에 일어나는 변화와 초기 단계 spicule 형성에 어떤 중요한 기능을 담당하고 있을 가능성이 있다.

ABSTRACT : The polysialic acid (polySia) glycotope covalently modifies cell surface glycoconjugates on cells as evolutionarily diverse as microbes and human. The recent chemical identification of polysialylated glycoproteins in the jelly coat and on the cell surface of the sea urchin egg raises important questions about their biosynthesis and possible function. Using CMP-[¹⁴C]Neu5Ac as substrate and cell free preparations from eggs and embryos of the sea urchin *Strongylocentrotus nudus*, we have identified a membrane associated CMP-Neu5Ac:poly- α 2, 8 sialosyl sialyltransferase (polyST) that transfers Neu5Ac to an endogenous acceptor. Optimal conditions for the polyST activity were found to be 20°C in 20 mM MOPS buffer (pH 7.0). The polyST activity was increased 2.7 times by the addition of 10 mM Mg²⁺. The membrane-associated polyST also catalyzed the polysialylation of mammalian ganglioside GD3. Given that no structurally similar natural polysialylated gangliosides have been described, nor were observed in the present study, we conclude that a single polyST activity catalyzes sialylation of the endogenous acceptor and the gangliosides. Using an excess of GD3 as an exogenous acceptor, it was established that the expression of the polyST in *S. nudus* embryos increased rapidly at the mesenchyme blastula stage and reached at maximum at the gastrula stage. The finding that this polyST in the sea urchin embryo is developmentally regulated raises the possibility that it may play a role in the changing cell and tissue interactions that occur during gastrulation and the early stages of spicule formation.

Key words : Polysialic acid, Polysialyltransferase, Sea urchin, Development.

서 론

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비(KRF 97-001-D00353)에 의하여 연구되었음.

[§] To whom correspondence should be addressed.

폴리시알린산 (polysialic acid)은 시알린산 (sialic acid, Sia)의 중합체이다. 폴리시알린산은 자연계에 존재하는 40여 가지 이상의 시알린산 중 다음 세 가지 시알린산으로 이루어져 있다. N-acetylneuramic acid (Neu5Ac), N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) 또는 3-deoxy-D-glycerol-D-

galacto-2-nonulosonic acid (KDN)이 이들인데 $\alpha 2,8-$, $\alpha 2,9-$, 또는 $\alpha 2,8-/ \alpha 2,9-$ -ketosidic 연결로 이루어져 있다. 폴리시알린당사슬은 미생물로부터 인간에 이르기까지 다양한 생물의 세포 표면에 존재하는 복합당사슬에 공유 결합되어 있고 폴리시알린산 발현은 신경의 발달 및 분화, 신경계 침투 세균의 접합에 영향을 미친다 (reviewed in Troy, 1995). 예를 들어 인간의 신생아 뇌막염을 일으키는 *Escherichia coli* K1과 *Neisseria meningitidis* serogroup B는 $\alpha 2,8$ 으로 연결된 폴리시알린산 캡슐을 갖고 있고 이것은 바로 이들이 신경계에 침투하게 하는 결정인자인 것이다. 신경계 침투 세균의 폴리시알린산 캡슐과 화학적으로나 구조적으로 동일한 $\alpha 2,8$ -폴리시알린산이 neural cell adhesion molecules (N-CAM's)의 N-linked 올리고당사슬에 연결되어 있다는 것이 밝혀짐으로 (Finne, 1982) 어떻게 이 세균들이 면역방어 기작을 피해서 신경계까지 침투할 수 있는가를 이해할 수 있게 되었다. 바로 이 세균들은 숙주와 동일한 물질로 둘러싸여 있는 것이다. 어류의 난자에서도 폴리시알린산이 발견되었는데 (poly-sialoglycoproteins) 여기서는 O-linked 올리고당사슬에 폴리시알린산이 연결되어 있다 (Inoue & Iwasaki, 1978). 폴리시알린산이 연결된 N-CAM's는 매우 흥미로운 물질로서 이것은 세포간의 결합이나 이동 등을 조절하고 또한 몇몇 인간의 종양의 표면에 재발현되는 oncodevelopmental antigen이다 (reviewed in Troy, 1995). 그리하여, 폴리시알린산은 분자미생물학, 신경생물학, 종양학, 세포학과 발생학 분야의 여러 중요한 생명현상에 깊숙이 관여하고 있다.

성계는 시알린산을 가지는 동물 중 가장 낮은 문 (phylum)에 속한다 (Varki, 1992). 성계가 실험에 적합한 이유는 성계의 배가 투명하여 발생과정 동안 일어나는 변화를 광학 현미경을 통해 관찰 가능하므로, 미세주사법 (microinjection)을 사용하여 폴리시알린산을 인식할 수 있는 항체 또는 폴리시알린산을 제거할 수 있는 효소 등을 처리하여 *in vivo* 상에서 폴리시알린산의 기능 연구에 용이하기 때문이다. 성계의 난자에는 시알린산이 매우 많이 포함되어 있다. 이러한 것은 폴리시알린산 때문일 것이라는 막연한 추측이 있었다. 성계 난자의 젤리층을 생화학적인 방법으로 조사해 본 결과 독특한 결합인 Neu5Gc의 $\alpha 2,5$ -연결이 발견되었다 (Kitazume, et al., 1994). 성계 난자에서 발견된 $\alpha 2,5$ 로 연결된 폴리시알린산은 20개 정도의 시알린산으로 구성되어 있으며 성계 난자의 젤리층 외에 egg sperm receptor (Kitazume et al., 1996), 그리고 성계의 외피 (shell) (Karamanos et al., 1996)에서도 발견되었다. 또한 성계 *Lytechinus pictus*의 난자와 배에 $\alpha 2,8$ -polysialyltransferase (polyST)가 존재하고 발생 단계에 따

라 조절된다는 것이 밝혀졌다 (Cho et al., 1996).

본 연구에서는 여러 가지 연구 상의 장점을 지닌 성계를 사용하여 배 발생시 폴리시알린산의 기능을 알아보고자 하였다. 이 연구를 위해 우선 기초 연구 수행부터 하였다. 본 연구의 목적은 크게 세 가지로 나눌 수 있다. 첫째, 한국산 성계 *Strongylocentrotus nudus*의 배에도 *L. pictus*의 배에서와 마찬가지로 polyST의 활성이 발견되는지 알아보기 위한 연구이고, 둘째, 활성이 확인된 polyST의 특성을 조사하는 연구, 셋째, polyST의 활성이 발생단계별로 조절되는지 알아보는 연구 등이다.

재료 및 방법

1. 실험 성계

강원도 주문진에 위치한 강릉 수산 종묘 배양장에서 둥근 성계 (*S. nudus*)를 채집하여 사용하였다.

2. 실험 재료 및 시약

Artificial sea water (Instant Ocean)는 Aquarium System (Mentor, OH, USA) 제품을 구입했다. CMP-[14 C]-Neu5Ac (10.5 GBq/mmol)는 Amersham Life Science (Buckinghamshire, England) 제품을 구입했다. Cold CMP-Neu5Ac는 Boehringer Mannheim (Indianapolis, IN, USA) 제품을 구입했다. Endo-N은 K1F에서 분리하여 사용하였다 (Hallenbeck et al., 1987). Ganglioside mixture는 Calbiochem (La Jolla, CA, USA) 제품을 사용하였다. BCA protein assay reagent는 Pierce (Rockford, IL, USA) 제품을 구입했다.

3. 성계배 배양

Gametes는 0.5 M KCl을 성계에 주입하여 얻었고 성계배는 Heifetz와 Lennarz (1979)의 방법으로 배양하였다. PolyST의 활성을 연구하기 위해서 각 발생단계별로 원심분리하여 (3,000×g for 5 min) 성계의 배를 수집하였고 성계의 배의 부피와 같은 양의 50 mM MOPS, pH 7.0, PIC1 buffer (1 μ g leupeptin, 2 μ g antipain, 10 μ g benzamidine을 1 ml aprotinin에 녹인 것)를 첨가하여 -70°C 에 얼려 보관하였다. PolyST의 활성 점검을 위해 초기 낭배기의 배를 사용하였다.

4. Membrane-associated $\alpha 2,8$ -polysialyltransferase 준비

냉동 보관되어 있던 성계의 배를 녹인 후 Branson Sonifier Cell Disruptor 185 (microtip; setting 4; 10 초씩 4 번)를

사용하여 sonication을 하고 DNase I을 10 분간 0°C에서 반응시킨 후 12,000×g에서 10 분간 원심분리하였다. 상층액을 다시 240,000×g에서 1 시간 초고속원심분리하여 얻은 침전물을 MOPS/PIC 1 완충용액을 첨가하였고 (P2) BCA 단백질 정량 용액을 사용하여 단백질의 양을 측정하였다.

5. α 2,8-polysialyltransferase assay

MOPS/PIC1이 포함된 polyST incubation mixture 조성은 20 μ l 당 membrane protein 140 μ g, sialidase inhibitor 2 μ g (2,3-dehydro-2-deoxy-N-acetylneuraminic acid) 그리고, 8 nmol CMP-[¹⁴C]-Neu5Ac (20.8125 dpm/pmol)가 포함되도록 하였고 반응은 20°C에서 20 시간 동안 진행시켰다. 반응이 끝난 후 10 μ l 씩 둘로 나눈 다음, 한 aliquot에는 폴리시알린산 만을 선택적으로 분해할 수 있는 Endo-N 0.02 U를 처리하고 나머지 aliquot에는 동량의 완충용액을 처리하여 37°C에서 4 시간 동안 반응시켰다. 이 두 가지 시료를 Whatman 3MM chromatography paper (Maidstone, England)에 spotting한 다음, 95% ethanol과 1 M ammonium acetate (pH 7.5)가 7 : 3의 비율로 들어있는 용액에서 19시간 동안 전개시켰다. spotting한 origin에 남아있는 방사능량을 측정하여 Endo-N을 처리하지 않은 것과 처리한 것의 차이를 계산하였다. Endo-N은 시알린산이 최소한 다섯 개 이상 연결된 폴리시알린산만을 제거할 수 있는 효소로 Endo-N을 처리하지 않은 것은 monosialyltransferase에 의한 monosialylation과 polyST에 의한 polysialylation을 모두 포함하는 total sialylation의 양을 나타낸 것이고, Endo-N을 처리한 것은 monosialylation의 양을 나타낸 것인데, Endo-N은 폴리시알린산의 환원 말단 부분에 있는 시알린산은 분해할 수 없기 때문에 폴리시알린산의 양이 실제보다 낮게 측정되었을 것으로 사료된다 (Hallenbeck et al., 1987).

6. Exogenous acceptor GD3에 의한 polysialyltransferase 활성 측정

P2 2 mg, sialidase inhibitor (2,3-dehydro-2-deoxy-N-acetylneuraminic acid) 40 μ g, MgCl₂ 4 μ mol, CMP-[¹⁴C] Neu5Ac (17 dpm/pmol) 160 nmol, GD3 200 μ g를 총 부피가 400 μ l가 되도록 50 mM MOPS/PIC1 (pH 7.0) 완충용액을 넣었다. 반응용액을 20°C에서 반응시킨 후, 0 시간, 0.5 시간, 1 시간, 2 시간, 4 시간, 7 시간, 13 시간마다 각각 50 μ l를 수집하여 25 μ l는 Endo-N 0.02 U를 처리하고, 25 μ l는 MOPS/PIC1 buffer로 처리한 후, 37°C에서 3 시간 동안 반응시켰다. 이 가운데 10 μ l는 Whatman 3MM paper에 spotting

하고 앞에서 언급한 같은 방법으로 paper chromatography를 하여 polyST활성을 측정하였고, 나머지 15 μ l는 SDS-PAGE (4~20 %)를 실시하였다. 대조군으로 위의 반응 용액에서 GD3를 뺀 반응 용액을 같은 방법으로 처리하여 사용하였다.

7. *S. nudus* α 2,8-polysialyltransferase의 발생 단계별 활성 조사

S. nudus α 2,8-polysialyltransferase의 활성이 발생단계별로 조절되는지를 알아보기 위해 egg, 포배기, early mesenchyme 포배기, 초기 낭배기, 중기 낭배기, 말기 낭배기, 그리고 prism stage의 배를 사용하여 polyST 효소액을 앞서 기술한 방법으로 만들고, exogenous acceptor로 기능을 발휘한 GD3를 포함하거나 포함하지 않는 반응용액을 만들어 polyST의 활성을 측정하였다. 이 실험을 위해서 P2 400 μ g, sialidase inhibitor 5 μ g, 그리고 20 nmol의 CMP-[¹⁴C] Neu5Ac (17 dpm/pmol), MgCl₂ 0.5 μ mol, 그리고 0.025 % Triton-CF54를 함유한 50 μ l MOPS/PIC1 완충용액을 준비하였고, GD3 75 μ g를 각각의 반응용액에 첨가하였다. 이 반응용액을 20 시간 반응시킨 후, paper chromatography와 SDS-PAGE (4-20 %)를 수행하여 polyST의 활성을 조사하였다.

결 과

1. α 2,8-polyST의 발현 위치 확인

α 2,8-polyST의 위치를 알아보기 위해서 세포 내에 존재하던 (cell-free) 낭배기 배의 추출물인 첫 번째 상층액 (Su-1) 그리고, Su-1을 초원심분리 (ultracentrifugation)하여 생긴 두 번째 상층액 (Su-2)과 두 번째 펠렛 (P-2)의 특이 활성도 (specific activity)를 조사한 결과, Table 1에서처럼 두 번째 펠렛에서 94 %의 polyST의 활성도가 회복됨이 관찰되었다. 이를 통해 polyST와 acceptor는 막에 존재함을 알 수 있었다.

2. α 2,8-polyST의 특성 조사

α 2,8-polyST의 활성도는 MOPS와 HEPES 두 가지 완충용액 중 20 mM MOPS pH 7.0에서 가장 높았다 (Fig 1A). 여러 가지 금속 양이온 (metal cation) 중 α 2,8-polyST의 활성도에 중요한 역할을 하는 것은 Mg²⁺ 이온으로서 10 mM 일 때 가장 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다 (Fig 1B와 1C). 또한 10 mM과 20 mM EDTA를 처리했을 때에도 polyST의 활성에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보아 아마도

Table 1. Polysialyltransferase activity in various preparation

	Specific activity ^(a)	Total specific activity	Percent recovery
Supernatant-1 ^(a)	121	113,027	100
Supernatant-2 ^(c)	10	6,760	6
Pellet-2 ^(d)	893	106,267	94

^(a) pmol [¹⁴C]Neu5Ac incorporated /mg protein /hr

^(b) cell-free crude extract of gastrula stage embryos

^(c) resulting supernatant and

^(d) pellet after ultracentrifugation of Su-1 at 240,000×g for 1 hr

polyST는 metal cation을 반드시 요구하지는 않는 것 같다 (Fig. 1B). 반응액을 반응시킨 여러 가지 온도 중 효소의 활성도가 가장 높게 나타난 온도는 20°C에서였다 (Fig. 1D).

3. Exogenous acceptor GD3에 의한 polysialyltransferase 활성 측정

polyST의 활성이 발생 단계별로 조절되는 지를 조사하기 위한 이상적인 방법은 polyST의 endogenous acceptor를 순수 분리하여 이들을 반응용액에 첨가하여 acceptor가 포화된

상태에서 조사하는 것이다. 그러나, 성계의 배로부터 endogenous acceptor를 순수 분리하는 것은 매우 많은 양의 성계 배가 필요하므로 경제적인 면에서 거의 불가능한 방법이다. *L. pictus*의 polyST는 여러 포유류의 ganglioside를 그들의 exogenous acceptor로 인식하여 sialic acid를 말단에 갖고 있는 당사슬에 polysialylation 시킬 수 있다 (Cho et al, 1996). 그러므로, *S. nudus*의 polyST도 포유류 ganglioside GD3를 exogenous acceptor로 사용할 수 있다면, GD3를 endogenous acceptor대신 사용할 수 있을 것이다. 이것을 조사하기 위해 early 낭배기의 polyST를 사용하여 ganglioside GD3가 존재하거나 존재하지 않는 반응용액을 만들어 endogenous acceptor와 exogenous acceptor에 대한 polyST의 kinetics를 조사하였다. *S. nudus*의 polyST는 포유류 ganglioside GD3를 exogenous acceptor로 사용하여 거의 5 배의 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 2A). *S. nudus* polyST 역시 *L. pictus*에서와 마찬가지로 38 kDa endogenous acceptor 단백질에 polysialylation 시킬 수 있었다 (Fig. 2B). 또한 exogenous acceptor GD3도 *S. nudus* polyST에 의해 polysialylation될 수 있었다 (Fig. 2C).

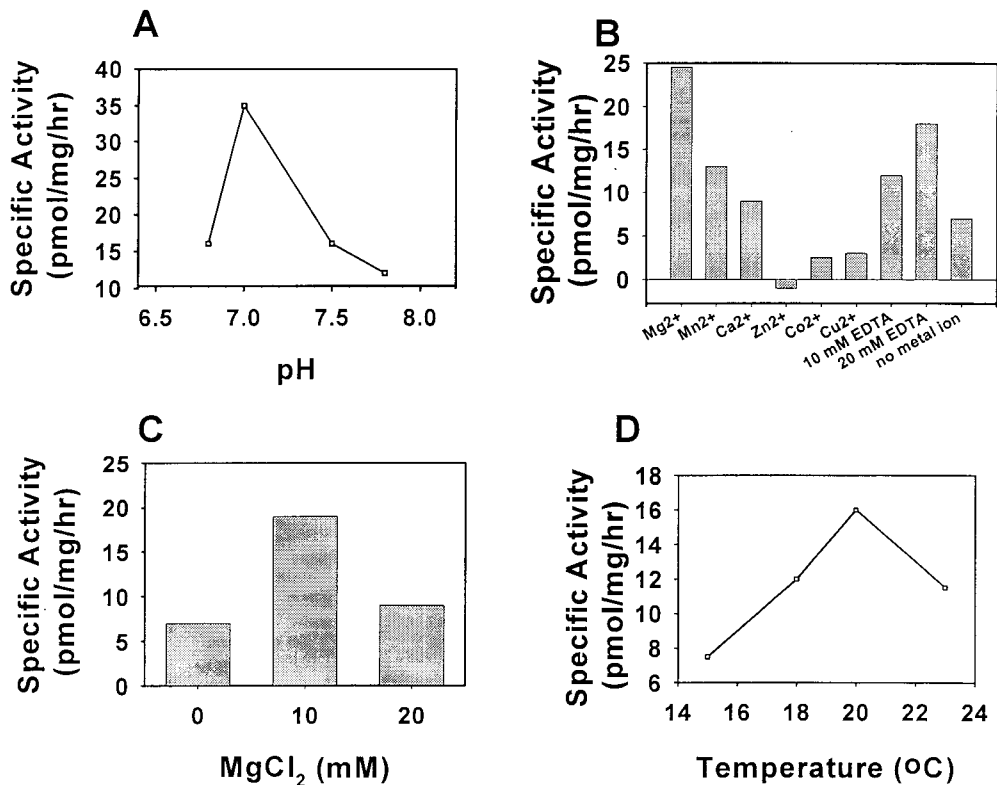


Fig. 1. Optimal conditions for polysialyltransferase activity.

(A) optimal pH for polysialyltransferase activity, (B) metal ion requirement, (C) optimal concentration of MgCl₂ for polysialyltransferase activity, (D) optimal temperature for polysialyltransferase activity.

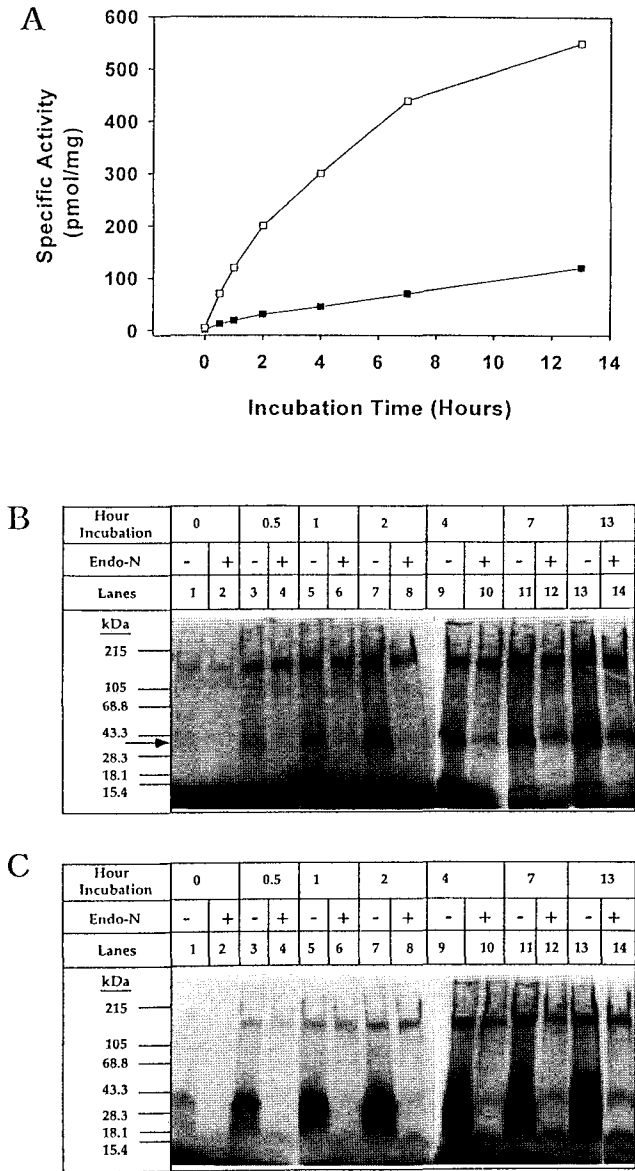


Fig. 2. Polysialylation of the endogenous acceptor and exogenously added GD3 by the gastrula stage embryo polysialyltransferase.

A, Kinetics of polysialylation with (□) or without (■) GD3; B, SDS-PAGE analysis of polysialylated endogenous acceptor. Arrow indicates the endogenous polysialylated acceptor molecule.; C, SDS-PAGE analysis of polysialylated GD3.

4. *S. nudus* α 2,8-polysialyltransferase의 발생 단계별 활성 조사

Acceptor가 포화되어 있는 조건에서 polyST의 활성이 발생 단계별로 조절되는 지를 알기 위해서 발생단계별로 polyST가 포함된 추출액을 준비하였고 포유류 ganglioside GD3를 첨가한 후 polyST 활성을 측정하였다 (Fig. 3).

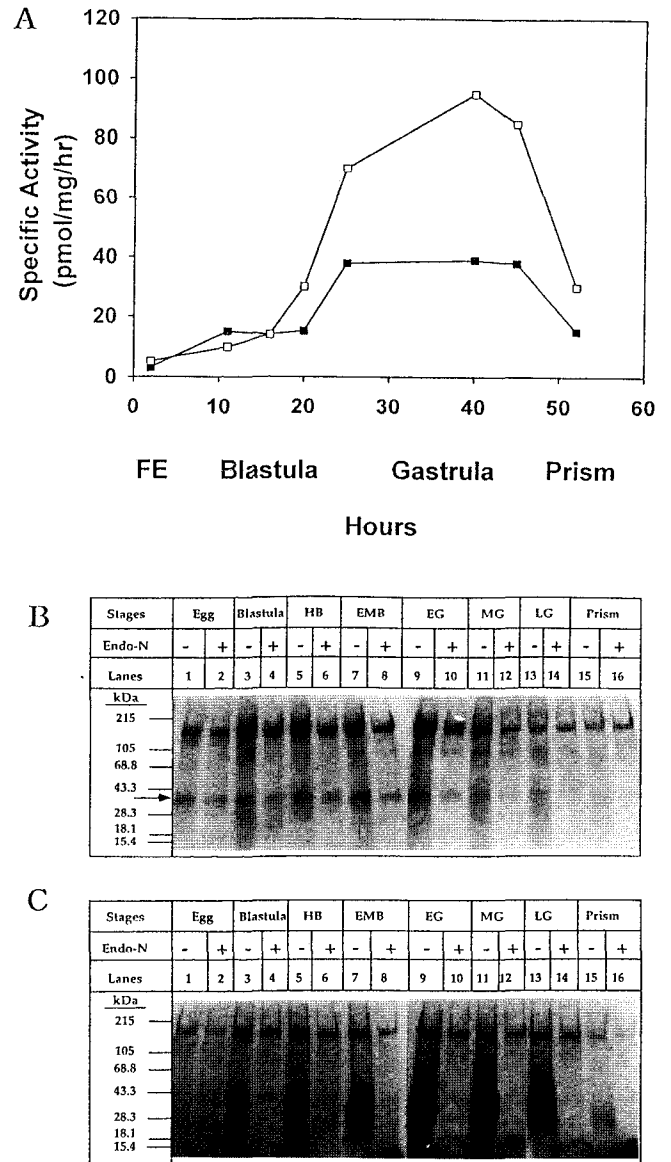


Fig. 3. Developmental expression of polysialyltransferase activity in embryos extracts.

Cell-free extracts were prepared from fertilized eggs (FE) and from blastula, hatched blastula, early mesenchyme blastula, early gastrula, late gastrula and prism stage embryos. A, The polysialyltransferase reaction was carried out in the presence (□) or absence (■) of GD3; B, SDS-PAGE analysis of the polysialyltransferase reaction mixture without GD3. Arrow indicates the endogenous polysialylated acceptor molecule.; C, SDS-PAGE analysis of the polysialyltransferase reaction mixture with GD3.

polyST 활성은 난자이나 hatched 포배기의 배에서는 거의 존재하지 않았다. 그러나, 그 다음부터는 급속하게 증가했다가 prism stage의 배에서는 급속하게 감소하였다. polyST 활성은 낭배기에서 endogenous acceptor 또는 exogenous ac-

ceptor GD3가 존재할 때에 최고로 나타났다. 그러므로, acceptor가 포화되어 있는 조건에서도 발생 초기나 prism stage에서 polyST 활성이 발견되지 않았다는 것은 최소한 polyST의 활성은 발생 단계별로 조절되어 낭배기에서 최고로 발현된다고 결론지을 수 있었다.

고 찰

성계는 Sia를 가지는 가장 하위 문에 속하는 동물로서 난자의 젤리 외투 (jelly coat) (Kitazume et al., 1994)와 egg sperm receptor (Kitazume et al., 1996) 그리고, 성계의 외피 (shell) (Karamanos et al., 1996)에서 폴리시알린산이 발견되었다. 이러한 발견들은 성계의 난자와 배에 있는 polyST 활성에 대한 연구로 이어졌다. NCAM에서의 폴리시알린산 사슬은 배발생 단계의 진행과 연관되어 있다. 세포 배열상과 형태학적 변화가 잘 알려져 있고 구조적으로 간단한 성계의 배는 폴리시알린산 사슬의 기능을 명확하게 밝힐 수 있는 매우 좋은 재료이다. *L. pictus*의 난자와 배를 이용한 실험에서 α 2,8-linked 폴리시알린산 사슬을 합성하는 polyST가 cell-free extract에 존재함이 밝혀졌고, 이러한 polyST가 발생단계에 따라 조절된다는 것 또한 밝혀졌다 (Cho et al., 1996). 본 실험을 통해서도 한국산 성계인 *S. nudus*의 난자와 배를 이용하여 polyST의 특성을 조사하고, 이 polyST가 발생단계별로 어떻게 조절되는 지를 알아보려고 하였다.

한국산 성계인 *S. nudus*의 polyST의 활성은 *L. pictus*의 배에 존재하는 polyST와 마찬가지로 MOPS, (pH 7.0)에서 최고로 나타났다. 하지만 MOPS의 농도면에서 *L. pictus*의 polyST는 50 mM에서 가장 높은 활성을 나타냈지만 *S. nudus*의 polyST의 활성은 20 mM에서 가장 높은 것으로 나타났다. 금속 이온의 영향을 조사한 실험에서는 polyST의 반응액에 10 mM Mg^{2+} 이온을 첨가한 것이 첨가하지 않은 것보다 약 2.7 배 정도 활성을 높였다. 한 가지 흥미로운 것은 10 mM과 20 mM의 EDTA를 넣었을 때 polyST의 활성이 증가한다는 것이다. 이러한 결과는 polyST를 준비하는 과정에 포함된 metalloendoprotease의 활성의 저하에 따른 이차적 현상일 가능성이 있다. 실제로 성계의 배에서 gelatinase와 같은 여러 종류의 metalloendoprotease들의 존재가 보고된 바 있다 (Robbinson, 1997; Mayne & Robbinson, 1996).

PolyST의 활성이 발생단계별로 조절되는 것은 최소한 다음 두 가지에 의해 이루어질 것으로 추측할 수 있다. 하나는 polyST의 활성이 조절되는 것이고 다른 하나는 poly ST의 acceptor가 발생단계별로 발현이 조절되는 것이다. polyST의

활성이 발생단계별로 조절되는 지를 알기 위해서는 순수분리된 polyST의 acceptor가 필요하나 이를 수행하려면 아주 많은 양의 성계배가 필요하기 때문에 *L. pictus* polyST의 acceptor로 사용했던 포유류 ganglioside인 GD3를 exogenous acceptor로 사용하였다. GD3는 성계에는 존재하지 않는 ganglioside이므로 이를 사용하여 polyST의 발생단계별 발현을 조사할 수 있다. PolyST의 활성은 초기 mesenchyme 포배기에 처음으로 나타나서 낭배기에 최고 수준에 이르렀다가 감소한다. PolyST가 처음으로 활성을 띄는 시기인 초기 mesenchyme 포배기에는 primary mesenchyme cell들이 vegetal plate에서 분리되어 나와 blastocoel 쪽으로 이동하여 포배기 wall을 따라 동물극 (animal pole)을 향하여 움직이기 시작한다. polyST의 활성이 최고조에 달한 시기인 낭배기에는 endodermal plate가 blastocoel 안쪽으로 함입되어 archenteron이 형성된다. 이어 Archenteron의 끝에서는 secondary mesenchyme cell들이 형성되어 동물극 쪽으로 이동한다. 척추동물의 경우 NCAM에 있는 폴리시알린산의 증가는 척추동물의 신경 (Rutishauser et al., 1988)과 근육 발생 체계 (Fredette et al., 1993)에서 세포이동이 일어나는 동안에 세포-세포간의 상호작용과 관련되어 있다는 것이 알려져 있다. 아마 성계 배 내에서도 폴리시알린산 사슬은 early mesenchyme 포배기와 낭배기 동안에 일어나는 세포이동과 관련되어 있을 것이다. 앞으로 폴리시알린산의 기능을 연구하기 위해서는 polyST와 acceptor를 분리 정제하고 antibody를 만들어 microinjection하여 그 기능을 조사한다거나, polyST와 acceptor를 gene cloning을 통하여 발현시킨 다음 antibody를 만들어 microinjection하여 기능을 조사하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Cho JW, Troy FA, Inoue S, Inoue Y, Lennarz WJ (1996) A developmentally regulated α 2,8-polysialyltransferase in embryos of the sea urchin *Lytechinus pictus*. *Development Growth Differ* 38:477-487.
- Finne J (1982) Occurrence of unique polysialosyl carbohydrate units in glycoproteins of developing brain. *J Biol Chem* 257:11966-11970.
- Fredette B, Rutishauser U, Landmesser L (1993) Regulation and activity-dependent of N-cadherin, NCAM isoforms, and polysialic acid on chick myotubes during development. *J Cell Biol* 123:1867-1888.

- Hallenbeck PC, Vimr ER, Yu F, Bassel B, Troy FA (1987) Purification and properties of a bacteriophage induced endo-N-acetylneuraminidase specific for poly- α -2, 8-sialosyl carbohydrate units. *J Biol Chem* 262:3553-3561.
- Heifetz A, Lennarz WJ (1979) Biosynthesis of N-glycosidically linked glycoproteins during gastrulation of sea urchin embryos. *J Biol Chem* 254:6119-6127.
- Inoue S, Iwasaki M (1978) Isolation of a normal glycoprotein from the eggs of rainbow trout: Occurrence of disialosyl groups on all carbohydrate chains. *Biochem Biophys Res Commun* 83:1018-1023.
- Karamanos NK, Manouras A, Anagnostides S, Makatsori E, Tsegenidis T, Antonopoulos CA (1996) Isolation, biochemical and immunological characterization of two sea urchin glycoproteins bearing sulphated poly (sialic acid) polysaccharides rich in N-glycolyl neuraminic acid. *Biochimie* 78: 171-182.
- Kitazume S, Kitajima K, Inoue S, Troy FA, Cho JW, Lennarz WJ, Inoue Y (1994) Identification of polysialic acid-containing glycoprotein in the jelly coat of sea urchin eggs. Occurrence of a novel type of polysialic acid structure. *J Biol Chem* 269:22712-22718.
- Kitazume S, Kitajima K, Inoue S, Haslam SM, Morris HR, Dell A, Lennarz WJ, Inoue Y (1996) The occurrence of novel 9-O-sulfated-N-glycolyl- neuraminic acid-capped α -2,5-O-glycolyl-linked oligo/polyNeu5Gc chains in sea urchin egg cell surface glycoprotein. Identification of a new chain termination signal for polysialyltransferase. *J Biol Chem* 271:6694-6701.
- Mayne J, Robinson JJ (1996) Purification and metal ion requirements of a candidate matrix metalloproteinase: A 41kDa gelatinase activity in the sea urchin embryo. *Biochem Cell Biol* 74:211-218.
- Robinson JJ (1997) Characterization of a metalloproteinase: a late stage specific gelatinase activity in the sea urchin embryo. *J Cell Biochem* 66: 337-345.
- Rutishauser U, Acheson A, Hall AK, Mann DM, Sunshine J (1988) The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell-cell interactions. *Science* 240:53-57.
- Troy FA (1995) Biology of Sialic Acid. Sialobiology and the Polysialic Acid Glycotope : Occurrence, Structure, Function, Synthesis and Glycopathology. In: Rosenberg A (ed.), *Sialic acid : Molecular, Regulatory and Abnormal Biology*, Plenum Press, New York, pp. 95-144.
- Varki A (1992) Diversity in the sialic acids. *Glycobiology* 2:25-40.