

생약의 VHR Dual - Specificity Protein Tyrosine Phosphatase (DS-PTPase) 저해 활성 검색

이명선¹ · 배은영¹ · 오원근¹ · 안순철¹ · 김보연¹ · 손천배² · 안종석^{1*}

¹한국 생명 공학 연구원, ²충남대 식품영양학과

Screening of the Inhibitory Activity of Medicinal Plants against VHR Dual-Specificity Protein Tyrosine Phosphatase (DS-PTPase)

Myung-Sun Lee¹, Eun-Young Bae¹, Won-Keun Oh¹, Soon-Cheol Ahn¹,
Bo-Yeon Kim¹, Cheon-Bae Sohn² and Jong-Seog Ahn^{1*}

¹Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

²Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Abstract – The methanol extracts of 162 herbal medicines were screened for the inhibitory activity against VHR dual-specificity protein tyrosine phosphatase (DS-PTPase). Seventeen medicinal plants, *Scutellaria baicalensis*, *Cuscuta chinensis*, *Caesalpinia sappan*, *Arecae pericarpium*, *Rubus coreanus*, *Machilus thunbergii*, *Amsonia elliptica*, *Cinnamomum cassia*, *Arisaema erubescens*, *Pueraria thunbergiana*, *Dendrobium moniliforme*, *Mentha arvensis*, *Peucedanum japonicum*, *Salvia miltiorrhiza*, *Leonurus sibiricus*, *Siegesbeckia orientalis*, *Prunella vulgaris* showed potent VHR DS-PTPase inhibitory activity.

Key words – VHR; DS-PTPase inhibitor; medicinal plants

세포 내에서 일어나는 여러 가지 신호 전달 과정에 있어서 단백질의 인산화(phosphorylation)와 탈인산화(dephosphorylation) 반응의 중요성은 이미 알려져 있고, 이러한 과정을 통하여 다양한 생리적 반응을 이끌어 내게 됨으로서 단백질의 인산화에 관여하는 효소(protein kinase)에 대한 연구가 지난 20년 동안 활발히 진행되어 왔다. 그러나 최근에는 단백질 인산화 효소는 물론 단백질 탈인산화에 관여하는 효소(protein phosphatase) 또한 관심의 대상이 되고 있는 실정이다.

단백질 탈인산화 효소는 크게 두 종류로 나누어 볼 수 있는데 serine/threonine 잔기의 탈인산화에 관여하는 protein phosphatase(PPase)와 tyrosine 잔기의 탈인산화에 작용하는 protein tyrosine phosphatase(PTPase)가 있다. Dual-specificity protein phosphatase(DS-PTPase)는 PTPase의 새로운 종류로 알려져 있고 tyrosine 잔기만을 탈인산화시키는 PTPase와는 달리 serine/threonine과 tyrosine 잔기를 동시에 탈인산화시키는 성질을 갖고 있다. 그리고 DS-PTPase는 세포의

분열과 성장을 위한 cell cycle의 조절에 관여하는 중요한 조절인자로 작용한다는 보고가 발표되고 있다.¹⁾

현재까지 포유류에서는 20종류 이상의 DS-PTPase가 발견되었고 그 중 본 실험에 이용된 vaccinia H1-related protein tyrosine phosphatase(VHR)은 인간으로부터 발견된 첫번째 DS-PTPase로 Ishibashi 등에 의해 동정되었다.³⁾ 특히 VHR은 세포 증식의 신호 전달 과정에서 중요한 역할을 하는 mitogen activated protein kinase(MAPK)에 의해 인산화된 아미노산 잔기에 작용하며,²⁾ 이러한 VHR의 serine/threonine과 tyrosine잔기의 탈인산화 작용으로 인하여 maturation promoting factor(MPF)가 활성화된다는 보고가 있다.⁴⁾ 그리고 세포 분열 주기의 조절에 관여하는 Cdk의 활성화에 관여함이 알려지면서 이 DS-PTPase의 저해물질은 세포 분열을 억제하여 항암제로의 개발 가능성이 제시되었다.⁵⁾ 또한 VHR이 T-세포 활성화의 신호 전달 조절 효소인 extracellular signal-regulated kinase(ERK)에 특이적으로 작용하는 DS-PTPase라고 알려지면서 이의 저해 물질로 면역 조절제로의 개발 가능성이 제시되어졌다.⁶⁾

지금까지 알려진 DS-PTPase나 PTPase의 저해물질로는

*교신저자(E-mail) : jsahn@mail.krribb.re.kr

vanadate (sodium orthovanadate), phenylarsine oxide (PAO), dephostatin, stevastelins, dnacin, dysidiolide, RK682등을 들 수 있다.⁷⁾ 특히 천연물에서 발견된 dnacin, dysidiolide, RK682는 cdc25의 저해물질로 알려져 있으며, stevastelins는 VHR의 저해물질로 발표된 바 있다.⁸⁾ 그러나 이러한 물질들의 성질이나 선택성, 세포 투과성 등에 대한 보고는 매우 미비하고 천연물에서의 발견 또한 공급면에서 볼 때 많은 제약이 있어 여러 가지 효소 활성 물질 발견에 어려움은 있으나, DS-PTPase 저해물질을 천연물에서 screening함으로써,⁹⁾ 당뇨병,¹⁰⁾ 면역기능 저하증¹¹⁾ 등의 질병 치료에 이용될 수 있으리라 사료되어 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

시약 - VHR의 기질인 para-nitrophenyl phosphate (p-NPP)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외의 시약은 고순도 등급의 것을 이용하였다.

VHR의 분리 - VHR은 Ishibashi 등의 방법에 따라 *E. coli*를 이용하여 제조하였다.³⁾ 플라스미드 pGEX로부터 Glutathione S-transferase (GST)-VHR fusion protein을 발현시킨 후 정제하여 본 실험에 이용하였다. 이 방법으로 제조된 GST-VHR fusion protein은 SDS/polyacrylamide gel에 전기영동 후 Coomassie blue로 염색하여 본 결과 >98%의 순도를 보였으며 이를 VHR phosphatase assay에 이용하였다.

VHR phosphatase assay - Tonks 등의 방법에 따라 p-NPP를 기질로 이용하여 탈인산화 정도를 측정하여 VHR에 대한 저해 활성을 조사하였다.¹²⁾ VHR을 100 μ l 완충용액 (50 mM succinate, pH 6.0, 1 mM EDTA, 140 mM NaCl, 0.05% Tween 20)에 녹여 10 mM p-NPP와 반응시킨 후 30°C에서 1시간 동안 방치한 후 1 N NaOH를 첨가하여 반응을 종결시킨 다음 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

생약 및 생약 시료의 조제 - 본 실험에 이용된 생약은 대전 일신약품(주)에서 구입하여 사용하였다. 건조한 시료 50 g을 methanol (250 ml)로 실온에서 7일간 추출한 후 40°C 이하에서 감압 농축 하여 10 mg/ml 농도가 되도록 70% 또는 100% methanol에 녹여 stock solution을 만들어 일차 탐색의 시액으로 사용했다. 일차 활성 검색 결과 강한 활성을 보여주는 시료에 대해서는 chloroform, butanol, H₂O를 사용한 용매 분획을 행하여 이차 탐색에 적용하였다.

결과 및 고찰

162종의 식물 생약 methanol 추출물을 이용하여 VHR의

효소 활성 저해를 조사하였다. 일차적으로 생약 시료를 최종 농도 300 μ g/ml에서 검색한 결과 황금, 토사자, 소목, 대복피, 복분자, 후박, 정향, 계지, 남성, 갈근, 석곡, 박하, 방풍, 단삼, 익모초, 회침, 하고초에서 50% 이상의 저해 활성을 나타내었고, 그 중에서도 특히 정향과 석곡은 82%와 73%의 강한 저해 활성을 보였다(Table I). 일차 검색 결과 선정된 생약 시료 17종의 methanol 추출물을 각각 chloroform, butanol, H₂O층으로 용매 분획한 후 VHR에 대한 각각의 저해 활성을 측정하였다. 그 결과 최종 농도 300 μ g/ml에서 황금, 토사자, 대복피, 후박, 계지, 남성, 갈근, 석곡과 회침의 경우 유기 용매 층에서만 저해 활성을 보이고 H₂O층에서는 전혀 저해 활성을 관찰할 수 없었다. 특히 토사자, 대복피, 계지, 남성, 회침은 chloroform층으로만 활성 물질이 이동하여 저해 활성을 나타내었다. 반면 방풍은 H₂O층에서만 저해 활성을 보일 뿐 유기 용매 층에서는 그 활성을 관찰할 수 없었고, 그 외의 생약에서는 유기 용매층과 H₂O층 모두에서 골고루 VHR에 대한 저해 활성을 관찰할 수 있었다(Table II).

단백질 탈인산화 효소(protein phosphatase)는 단백질 인산화 효소(protein kinase)와 더불어 세포 내 신호 전달 과정에 관여하고 있다. 세포막에서 핵까지의 여러 신호 전달 과정 중에서도 MAPK pathway가 중요하게 여겨지는데 DS-PTPase가 바로 이 과정에 밀접하게 관련된 것으로 알려져 있다. MAPK가 활성화되려면 반드시 threonine과 tyrosine 두 잔기 동시에 모두 인산화가 일어나야 하고, 반대로 이 효소가 불활성화 되려면 DS-PTPase가 작용해야 하므로 MAPK를 통한 세포 내 신호전달에서 DS-PTPase의 역할은 매우 중요하다고 할 수 있겠다. 척추 동물에서 볼 때 MAPK pathway는 크게 ERK(extracellular signal-regulated kinase), JNK/SAPK(c-Jun N-terminal kinase), p38/HOG1 pathway로 분류된다. 그 중에서 ERK-MAPK pathway만이 oncogenesis와 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있다.⁹⁾ 그리고 최근 들어 이러한 신호 전달 과정에 있어서 VHR이 ERK-MAPK pathway에 특이하게 작용하는 단백질 탈인산화 효소라고 알려졌다.⁶⁾

또 다른 DS-PTPase로 cdc25를 들 수 있는데 이는 cell cycle에 관여하는 cdc2단백질의 탈인산화 반응에 관여한다. M-phase promoting factor 또는 maturation promoting factor (MPF)로 불려지기도 하는 cdc2-cyclin B kinase complex가 작용하기 위해서는 cdc2 단백질의 threonine-14과 tyrosine-15잔기에 cdc25에 의한 탈인산화 반응이 동시에 일어나야 mitosis가 개시되는데 이때 관여하는 cdc25 또한 대표적 DS-PTPase의 한 종류로 알려져 있다.⁴⁾

이렇듯 세포 내 여러 신호 전달 체계에 관여하는 DS-

Table I. Inhibition of VHR DS-PTPase by the methanol extracts of herbal plants

Sample	Part of plant ^a	Inhibition (%) ^b
<i>Aconitum carmichaeli</i> (부자)	tu	- ^c
<i>Aconitum koreanum</i> (백부자)	tu	-
<i>Aconitum kusnezoffii</i> (초오)	ra	-
<i>Acorus gramineus</i> (석창포)	rh	-
<i>Adenophora tryphylla</i> (사삼)	ra	-
<i>Agrimonia pilosa</i> (선학초)	ap	-
<i>Ailanthus altissima</i> (가죽나무)	rb	-
<i>Akebia quinata</i> (목통)	ra	-
<i>Akebia quinata</i> (통초)	ap	-
<i>Alisma orientale</i> (택사)	rh	-
<i>Alisma orientale</i> (택사)	rh	-
<i>Althaea rosea</i> (촉구화)	fl	-
<i>Amomum kravanh</i> (백두구)	fr	-
<i>Amomum xanthioides</i> (사인)	sm	-
<i>Amonum tsao-ko</i> (초과)	fr	-
<i>Amsonia elliptica</i> (정향)	fl	82
<i>Amsonia elliptica</i> (정향피)	ba	-
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	rh	-
<i>Angelica dahurica</i> (백지)	ra	-
<i>Angelica gigas</i> (당귀)	ra	-
<i>Angelica koreana</i> (강활)	ra	-
<i>Anthriscus sylvestris</i> (전호)	ra	-
<i>Aralia cordata</i> (독활)	ra	-
<i>Archyranthes japonica</i> (우슬)	ra	-
<i>Arctium lappa</i> (우방자)	fr	-
<i>Areca catechu</i> (빈랑)	sm	-
<i>Arecae pericarpium</i> (대복피)	ba	52
<i>Arisaema erubescens</i> (남성)	rh	65
<i>Artemisia argyi</i> (애엽)	ap	-
<i>Artemisia capillaries</i> (인진)	ap	-
<i>Asiasarum sieboldi</i> (세신)	ra	-
<i>Asparagus cochinchinensis</i> (천문동)	ra	-
<i>Aster tataricus</i> (자원)	ra	-
<i>Atractylodes japonica</i> (백출)	rh	-
<i>Atractylodes japonica</i> (창출)	rh	-
<i>Bambyx mori</i> (백강잠)	ap	-
<i>Belamcanda chinensis</i> (사간)	rh	-
<i>Benincasa hispida</i> (동과자)	sm	-
<i>Biota orientalis</i> (백자인)	sm	-
<i>Bupleurum falcatum</i> (시호)	ra	-
<i>Caesalpinia sappan</i> (소목)	li	65
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화)	fl	-
<i>Cassia obtusifolia</i> (결명자)	sm	-
<i>Cassia occidentalis</i> (석결명)	sm	-

Table I. Continued

Sample	Part of plant ^a	Inhibition (%) ^b
<i>Chelidonium major</i> (백굴채)	ap	-
<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	fl	-
<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (승마)	rh	-
<i>Cinnamomumi ramulus</i> (계지)	ba	53
<i>Cinnamomum cassia</i> (계피)	ba	-
<i>Cirsium japonicum</i> (대계)	ap	-
<i>Cistanche deserticola</i> (육종용)	ap	-
<i>Citrus unshiu</i> (진피)	pc	-
<i>Clematis chinensis</i> (위령선)	ra	-
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	rh	-
<i>Coix lachryma-jobi</i> (의이인)	sm	-
<i>Coptis japonica</i> (황련)	rh	-
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	fr	-
<i>Corydalis yanhusuo</i> (현호색)	tu	-
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사자)	fr	-
<i>Croton tiglium</i> (파두)	sm	-
<i>Curcuma zedoaria</i> (봉출)	rh	-
<i>Cuscuta chinensis</i> (토사자)	sm	54
<i>Cyperus rotundus</i> (향부자)	rh	-
<i>Dendrobium moniliforme</i> (석곡)	ap	73
<i>Diodia teres</i> (백령풀)	ap	-
<i>Dioscorea japonica</i> (산약)	ra	-
<i>Dolichos lablab</i> (백편두)	sm	-
<i>Drynaria fortunei</i> (골채보)	rh	-
<i>Elsholtzia ciliate</i> (향유)	ap	-
<i>Ephedra sinica</i> (마황)	ap	-
<i>Epimedium koreanum</i> (음양곽)	lf	-
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	pc	-
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	ba	-
<i>Euphoria longana</i> (용안육)	sm	-
<i>Evodia officinalis</i> (오수유)	fr	-
<i>Foeniculum vulgare</i> (회향)	fr	-
<i>Forsythia koreana</i> (연교)	fr	-
<i>Fritillaria ussuriensis</i> (패모)	bu	-
<i>Gardenia jasminoides</i> (치자)	fr	-
<i>Gastrodia elata</i> (천마)	rh	-
<i>Gentiana macrophylla</i> (진교)	ra	-
<i>Gentiana scabra</i> (용담초)	ra	-
<i>Gleditsia sinensis</i> (조각자)	fr	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	ra	-
<i>Hordeum vulgare</i> (맥아)	fr	-
<i>Inula helenium</i> (목향)	ra	-
<i>Ledebouriella seseloids</i> (방풍)	ra	61
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	ap	60
<i>Ligusticum tenuissimum</i> (고본)	ra	-

Table I. Continued

Sample	Part of plant ^a	Inhibition (%) ^b
<i>Ligustrum lucidum</i> (여정실)	fr	-
<i>Lilium distichum</i> (말나리)	ap	-
<i>Lindera strrychifolia</i> (오약)	ra	-
<i>Liriope graminifolia</i> (맥문동)	tu	-
<i>Lonicera japonica</i> (금잔화)	fl	-
<i>Lophatherum gracile</i> (죽엽)	ap	-
<i>Loranthus parasiticus</i> (상기생)	ap	-
<i>Lunicera japonica</i> (인동)	lf	-
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	fr	-
<i>Lycium chinense</i> (지골피)	ba	-
<i>Machilus thunbergii</i> (후박)	ba	60
<i>Magnolia liliflora</i> (신이화)	fl	-
<i>Mentha arvensis</i> (박하)	ap	57
<i>Morinda officinalis</i> (파극)	ra	-
<i>Morus alba</i> (상백피)	ba	-
<i>Nelumbo nucifera</i> (연자육)	sm	-
<i>Pachyma hoelen</i> (복령)	ho	-
<i>Paeonia japonica</i> (백작약)	ra	-
<i>Paeonia lactiflora</i> (적작약)	ra	-
<i>Paeonia moutan</i> (목단피)	ba	-
<i>Panax ginseng</i> (수삼)	ra	-
<i>Panax ginseng</i> (홍삼)	ra	-
<i>Perilla frutescens</i> (소엽)	ap	-
<i>Perilla frutescens</i> (소자)	sm	-
<i>Peucedanum japonicum</i> (방풍)	ra	-
<i>Phellodendron amurense</i> (황백)	ba	-
<i>Phragmites communis</i> (노근)	rh	-
<i>Picrorrhiza kurroa</i> (호황련)	rh	-
<i>Pinellia ternate</i> (반하)	rh	-
<i>Piper longum</i> (백급)	rh	-
<i>Piper longum</i> (필발)	fr	-
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	sm	-
<i>Platycodon grandiflorum</i> (길경)	ra	-
<i>Polygala tenuifolia</i> (원지)	ra	-
<i>Polyporus umbellatus</i> (저령)	ho	-
<i>Poncirus trifoliata</i> (지실)	fr	-
<i>Prunella vulgaris</i> (하고초)	ap	63
<i>Prunus mume</i> (매실)	fr	-
<i>Prunus persica</i> (도인)	sm	-
<i>Pueraria thunbergiana</i> (갈근)	ra	69
<i>Pueraria thynbergiana</i> (갈화)	fl	-
<i>Pulsatilla chinensis</i> (백두옹)	ra	-
<i>Rehmannia glutinosa</i> (건지황)	rh	-

Table I. Continued

Sample	Part of plant ^a	Inhibition (%) ^b
<i>Rehmannia glutinosa</i> (preparate) (숙지황)	ra	-
<i>Reynoutria japonica</i> (호장근)	ra	-
<i>Rheum palmatum</i> (대황)	rh	-
<i>Rubia cordifolia</i> (천초근)	ra	-
<i>Rubus coreanus</i> (복분자)	fr	65
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (단삼)	ra	63
<i>Sanguisorba officinalis</i> (지유)	ra	-
<i>Saururus chinensis</i> (삼백초)	ap	-
<i>Schisandra chinensis</i> (오미자)	fr	-
<i>Schizonepeta tenuifolia</i> (형개)	ap	-
<i>Scirpus flaviatilis</i> (삼릉)	rh	-
<i>Scrophularia ningpoensis</i> (현삼)	ra	-
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	ra	63
<i>Siegesbeckia orientalis</i> (희침)	ap	59
<i>Sinomenium acutum</i> (방기)	rh	-
<i>Sophora angustifolia</i> (고삼)	ra	-
<i>Sophora japonica</i> (괴화)	fl	-
<i>Sorbus amurensis</i> (정공피)	ba	-
<i>Teucrium verinicoides</i> (곽향)	ap	-
<i>Torilis japonica</i> (사상자)	fr	-
<i>Torrega grandis</i> (비자)	sm	-
<i>Tribulus terrestris</i> (백질려)	fr	-
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (과루인)	ra	-
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (천화분)	po	-
<i>Trigonella foenumgraecum</i> (호로파)	sm	-
<i>Typha orientalis</i> (포황)	po	-
<i>Vitex rotundifolia</i> (만형자)	fr	-
<i>Xanthium strumarium</i> (창이자)	fr	-
<i>Zingiber officinale</i> (건강)	rh	-
<i>Zizyphus jujube</i> (산조인)	sm	-

^aap. arial part; ba. bark; bu. bulb; cl. calyx; fl. flower; fr. fruit; hn. hoelen; li. lignum; lf. leaf; pc. pericarpium; po. pollen; ra. radix; rb. root bark; rh. rhizome; sm. seed; tu. tuber; ^bfinal concentrations: 300 µg/ml. ^c-: less than 30% inhibition

PTPase의 역할이 다양하게 보고되고 있고, DS-PTPase로서 VHR에 특이하게 작용하는 천연물에서 유래한 저해물질에 대한 연구는 미비하였다. 따라서 선정된 7가지의 식물 생약에 대해서 활성 성분의 분리에 대한 연구를 진행시킬 예정이고 아울러 이 DS-PTPase의 저해물질을 여러 가지 암, 당뇨병, 면역 질환 등의 질병 치료는 물론 DS-PTPase가 관여하는 신호 전달.기작 연구도 추가로 진행할 예정이다.

Table II. Inhibition of VHR DS-PTPase activity against chloroform, butanol and H₂O fraction of some medicinal plants

Samples	% Inhibition ^a			
	Total MeOH ext.	CHCl ₃ fr.	BuOH fr.	H ₂ O fr.
<i>Scutellaria baicalensis</i>	63	70	73	33
<i>Cuscuta chinensis</i>	54	34	- ^b	-
<i>Caesalpinia sappan</i>	65	50	57	46
<i>Arecae pericarpium</i>	52	36	-	-
<i>Rubus coreanus</i>	65	57	53	46
<i>Machilus thunbergii</i>	60	67	49	-
<i>Amsonia elliptica</i>	82	70	65	53
<i>Cinnamomum cassia</i>	53	50	-	-
<i>Arisaema erubescens</i>	65	34	-	-
<i>Pueraria thunbergiana</i>	69	-	-	-
<i>Dendrobium moniliforme</i>	73	60	-	-
<i>Mentha arvensis</i>	57	43	39	41
<i>Peucedanum japonicum</i>	61	-	-	41
<i>Salvia multiorrhiza</i>	63	-	51	46
<i>Leonurus sibiricus</i>	60	37	44	34
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	59	58	-	-
<i>Prunella vulgaris</i>	63	43	47	60

^afinal concentrations: 300 µg/ml. ^b:- less than 30% inhibition

결 론

천연물로부터 DS-PTPase의 저해 물질을 검색할 목적으로 164종의 식물 생약 추출물에 대한 VHR 저해 활성을 측정 하였다. 그 결과 황금, 토사자, 소목, 대북피, 복분자, 후박, 정향, 계지, 남성, 갈근, 석곡, 박하, 방풍, 단삼, 익모초, 희침, 하고초에서 50% 이상의 저해 활성을 나타내었다. 이와 같이 일차 검색에서 선정된 17종의 생약 시료 중에서 유기 용매 층으로만 활성 물질이 이행되는 황금(*Scutellaria baicalensis*), 후박(*Machilus thunbergii*), 남성(*Arisaema erubescens*), 갈근(*Pueraria thunbergiana*), 석곡(*Dendrobium moniliforme*), 희침(*Siegesbeckia orientalis*)을 최종적으로 선정하였고 현재 VHR 저해 활성을 갖는 물질 분리를 수행 중에 있다.

인용문헌

1. Denu, J. M., Zhou, G., Wu, L., Zhao, R. and Yuvaniyama, J. (1995) The purification and characterization of a human dual-specific protein tyrosine phosphatase. *J. Biol. Chem.* **270**: 3796-3803.

2. Sun, H., Charles, C. H., Lau, L. F. and Tonks, N. K. (1993) MKP-1 (3CH134), an immediate early gene product, is a dual specificity phosphatase that dephosphorylates MAP kinase *in vivo*. *Cell* **75**: 487-493.

3. Ishibashi, T., Bottaro, D. P., Chan, A., Miki, T. and Aaronson, S. T. (1992) Expression cloning of a human dual-specificity phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* **89**: 12170-12174.

4. Hamaguchi, T., Sudo, T., Osada, H. (1995) RK-682, a potent inhibitor of tyrosine phosphatase, arrested the mammalian cell cycle progression at G1 phase. *FEBS Letters.* **372**: 54-58.

5. Gyuris, J., Golemis, E., Chertkov, H., Brent, R. (1993) Cdi1, a human G1 and S phase protein phosphatase that associates with Cdk2. *Cell.* **75**, 791-803.

6. Todd, J.L., Tanner, K. G., Denu, J. M. (1999) Extracellular regulated kinases (ERK) 1 and ERK 2 are authentic substrates for the dual-specificity protein-tyrosine phosphatase VHR, a novel role in down-regulating the ERK pathway. *J. Biol. Chem.* **274**, 13271-13280.

7. Burke, T. R. and Zhang, Z. Y. (1998) Protein tyrosine phosphatases: structure, mechanism, and inhibitor discovery. *Biopolymers (Peptide science)* **47**: 225-241.

8. Hamaguchi, T., Masuda, A., Morino, T. and Osada, H. (1997) Stevastelins, a novel group of immunosuppressants, inhibit dual-specificity protein phosphatases. *Chemistry & Biology.* **4**: 279-286.

9. Hunter, T. (1997) Oncoprotein networks. *Cell.* **88**: 333-346.

10. Lu, J., Li, Q., Xie, H., Chen, Z. J., Borovitskaya, A. E., Maclaren, N. K., Notkins, A. L. and Lan, M. S. (1996) Identification of a second transmembrane protein tyrosine phosphatase, IA-2beta, as an autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus: precursor of the 37-kDa tryptic fragment. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* **93**: 2307-2311.

11. Chan, A. C., Desai, D. M. and Weiss, A. (1994) The role of protein tyrosine kinases and protein tyrosine phosphatases of cell antigen receptor signal transduction. *Ann Rev. Immunol.* **12**: 555-592.

12. Tonks, N. K., Diltz, C. D. and Fischer, E. H. (1988) Characterization of the major protein-tyrosine-phosphatases of human placenta. *J. Biol. Chem.* **263**: 6731-6737.

(2002년 2월 15일 접수)