

제 목	Phospholipase C isozyme들과 조절물질 선별체계
연구자	민도식, 이영한, 서판길, 류성호
소 속	포항공대 생명과학대학
내 용	<p>Phosphoinositide-specific phospholipase C (PLC)는 세포막의 phosphoinositide를 분해하여 inositol phosphates와 diacylglycerol 을 생성함으로써, 수용체의 신호를 세포내 Ca²⁺ 농도 및 protein kinase C 활성 조절로 전달하는데 핵심적인 효소이다. PLC는 분자량과 1차구조의 비교에 의하여 3가지 type (PLC-β, γ, δ)로 구분되며, 각 type마다 2-4종의 subtype이 존재하고 있다. PLC isozyme들에 대한 현재까지의 각종 신호 전달 및 조절에 대한 연구를 종합하면: (1) PLC-β type은 G-protein과 연결되어 신호를 전달받고, (2) PLC-γ type은 growth factor receptor tyrosine kinase에 의하여 인산화되어 활성화 됨으로써, 세포의 성장 신호를 전달하며, (3) PLC-δ type에 대한 신호 전달이나 조절은 밝혀지지 않고 있다.</p> <p>PLC를 통한 신호 전달체계 조절물질을 탐색 개발함으로써, 세포의 성장, 대사, 분비 등의 생리 및 병리적인 현상을 조절할 수 있는 의약 선도 물질로 이용하고자 하는 시도로서, 본 연구에서는 각 PLC isozyme들의 분리 및 규명, 과발현체계를 이용한 효소의 확보와 발현 세포주의 확립 및 이들을 이용한 활성조절 물질 탐색 체계를 개발하고 있다. 본 발표에는 현재까지의 연구 결과를 다음과 같은 부분에 중점을 두어 설명하고자 한다.</p> <p>1) 소의 소뇌로부터 새로운 M.W. 130,000인 PLC isozyme을 분리하였다. 분리된 PLC의 효소학적인 성질, 항체로의 인식, 부분 아미노산 배열 결정 및 비교를 통하여 이 효소가 PLC-β type에 속하는 isozyme임을 밝히고 PLC-β4로 명명하였다.</p> <p>2) cDNA가 확보된 PLC-β1, γ1, δ1 isozyme들에 대하여 vaccinia virus를 이용하여 과발현 recombinant virus를 만들고 Hela cell에서 과발현 시킨 다음, HPLC를 이용하여 순수 분리정제 하였다. 정제된 isozyme들에 대한 조절 물질의 시험관내 탐색 조건을 확립하였다.</p> <p>3) 세포 성장 신호 전달 과정의 핵심 역할을 하고 있는 PLC-γ1을 platelet derived growth factor receptor가 많이 발현되어 있는 NIH 3T3 세포에 발현시켜 안정된 세포주를 개발하였다. 개발된 세포주를 이용하여 세포 성장 신호 전달 억제 물질 탐색 조건을 확립하였다.</p> <p>이와 같은 결과들을 신호 전달계에서의 각 PLC isozyme들의 역할과 조절 기전 및 생리적 의미와 의약품 선도 물질의 개발 단계에 있어서 중요한 기반을 제공할 수 있을 것으로 판단된다.</p>