

*

분류번호	II-O-9
------	--------

제 목	평지방막에 융합된 관상동맥의 Ca ²⁺ - activated K ⁺ 통로의 특성
연구자	김희정, 박진봉, 류판동, 이문한, 임병용*, 홍기환*
소 속	서울대학교 수의과대학 약리독성학교실 부산대학교 의과대학 약리학교실*
내 용	<p>관상동맥은 전기적으로 자극하여도 활동전위가 쉽게 유발되지 않는 조직인데, 이는 세포내의 Ca²⁺에 의해서 활성화되는 K⁺통로때문이라고 여겨지고 있다. 저자들은 단일 이온통로 수준에서 이러한 관상동맥 K⁺ 통로의 성질을 조사하고, 아울러 K⁺ 통로 개방제를 포함한 몇가지 약물이 K⁺ 통로에 미치는 영향을 알아 보고자 본 연구를 수행하였다.</p> <p>막소포는 돼지의 심장에서 관상동맥을 분리하여 균질화 및 원심분리하여 준비하였으며, sucrose 20/30%에 있는 층을 취하여 분주한 후 -70 °C로 보관하여 사용하였다. 평지방막은 1-palmitoyl, 2-oleoyl-phosphatidyl ethanolamine과 1-palmitoyl, 2-oleoyl phosphatidylcholine (4:1)을 n-decane에 녹인지방액 (25mg/ml)을 200 μm의 구멍에 칠하여 만들었다. 단일 K⁺ 통로는 막소포 (1-5 μg/ml)를 평지방막의 한쪽에 추가하고 자석으로 저어 융합이 되도록 하였으며, 통로의 활성화는 막의 양쪽에 150 mM KCl, 10 mM HEPES-KOH, 0.5 mM EGTA, 0.6 mM CaCl₂ (pH 7.2)로 된 용액이 존재하는 상태에서 막전압을 다르게 하며 기록하였다. 단일 이온 통로 전류는 amplifier를 통하여 VCR tape에 녹화하여 후에 분석에 이용하였으며, 동시에 종이기록지에 기록하였다. 단일이온통로 활성화의 분석은 pClamp (Ver5.5)를 이용하여 수행하였다. 관상동맥에서 가장 흔히 기록되는 이온통로는 막전압과 Ca²⁺의 농도에 의하여 변하는 K⁺ 통로이었는데 pCa 4.0과 -10 mV에서 초기 활성화도(Po)는 0.1에서 0.8까지 다양하였다. 전류와 전압과의 관계는 -60 - +60mV의 전압범위에서 직선형이었다.</p> <p>전도도(slope conductance)로 구분할 때는 290, 305, 330 pS인 세 종류의 통로 아종 (subtype)이 관찰되었다. 통로의 활성화가 50%인 때의 막전압은 pCa 4.0에서 3 mV, pCa 6.0에서 47 mV이었고, 활성화도는 매 8-11 mV마다 e-fold 증가되었다. K⁺ 통로 억제제인 tetraethylammonium을 통로 바깥쪽에 적용했을 때 단일이온 통로의 크기가 감소되었다(Ki = 200 - 300 μM). 통로의 활성화도는 large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ 통로의 차단제로 알려진 charybdotoxin (5 nM)에 의해서 억제되었다. Arachidonic acid(5-20 μM)는 통로의 활성화도를 증가시켰으나, 대장에서 Ca²⁺-activated K⁺통로의 활성을 증가시키거나 감소시키는 것으로 보고된 cromakalim (-500 μM)이나 glybenclamide (-500 μM)는 통로의 활성화에 영향을 주지 않았다.</p> <p>본 실험에서 관상동맥 평활근에서 평지방막법으로 기록된 K⁺ 통로는 그 특성으로 보아 막전압과 통로 안쪽의 Ca²⁺에 의해서 활성화되는 large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel (BK)로 여겨진다. 그러나, 대장에서와 다르게 cromakalim이나 glybenclamide는 관상동맥 BK 통로의 활성화에 영향을 미치지 않았다. 또 본 연구의 결과는 생리적인 역할과 conductance가 다른 BK 통로의 아종이 존재함을 암시한다.</p>