

단백질과 숨바꼭질 놀이: Proteome Localization

최 종 순 ● 한국기초과학지원연구원

만일 외계인이 파괴된 인류 문명을 찾는 과정에서 국자를 발견했다고 하자. 그 용도에 대해서 의문을 갖고 있다가 음식을 준비하는 방에서 발견되었다고 하면 아마도 요리에 관련된 도구일 것이라고 추측할 것이다. 마찬가지로 미토콘드리아 또는 다른 특이한 세포내 장소에서 미지의 단백질을 찾았다고 하면 가능한 기능에 대한 짝막한 리스트는 작성할 수 있을 것이다. 바로 단백질의 발현 장소를 *in vivo* 수준에서 찾아내면 유전자의 기능을 어느 정도 추측하는데 도움이 될 수 있다. 이제 whole genome sequencing의 결과로 연구자들은 분자 수준에서의 유전자의 기능을 대규모 단백질 위치 분석으로 과거에 전혀 기능을 알 수 없었던 대규모 단백질의 잠정적인 기능을 해석하려는 시도가 진행되고 있다. 따라서 단백질 발현 위치의 카타로그는 세포내 작용에 대한 이론과 상호 검증 그리고 세포내 고고학적 탐색의 도구로 사용되고 있다.

Yale 대학의 Michael Snyder와 그의 동료들은 효모에서 발현되는 단백질의 약 60%를 epitope으로 tagging하여 고속 면역 형광법 (high-throughput immunofluorescence)으로 위치를 추적하였다. 그들이 제작한 yeast strain 으로부터 tagging된 모든 효모 단백질의 세포 내 위치를 추적하는데 성공하였다 (Kumar 등, 2002. Genes Dev. 16:707-19). 그리고 Southern Denmark에 있는 Mattias Mann과 Dundee 대학의 Angus Lamond는 질량분석기와 제한적인 면역 형광법으로 전례가 없는 인간의 nucleolar protein의 발현 위치를 성공적으로 분석하였다 (Andersen 등, 2002. Curr. Biol. 12:1-11). 이 연구는 리보솜 생합성 경로의 예상되는 단백질의 확인 이외에 nucleolus에 알려진 기능이

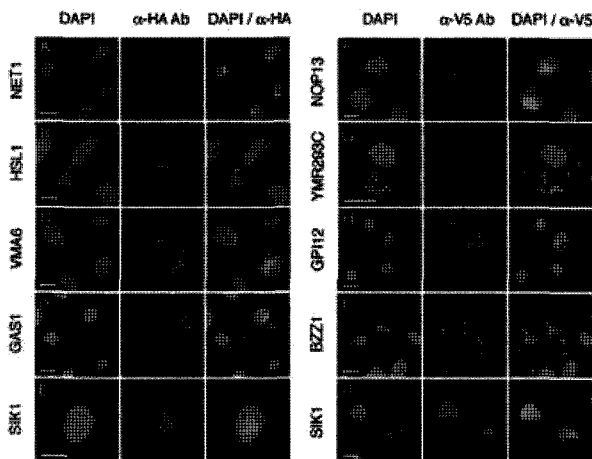
없는 상당수의 단백질을 추가로 발굴했다는 의미를 둘 수 있다.

Snyder는 두가지 tagging 방법을 이용하여 효모내 발현 위치를 동정하였다. 이 그룹은 2,085개의 효모의 open reading frame을 inducible GAL1 promoter와 V5 epitope을 가지고 있는 벡터에 클로닝하여 항체의 시각화 작업을 시도하였다. 또한 hemagglutinin epitope을 가지고 있는 transposon 벡터를 이용하여 2,958개의 transposon 삽입 돌연변이체를 제작하였다. 두 가지 방법으로 중첩된 3,565개 단백질의 위치를 직접적으로 나타나게 하는데 성공하였다. Mann과 그 동료들은 Human HeLa 배양세포를 가지고 전혀 다른 방법으로 접근하였다. 그들은 생화학적으로 nucleoli를 정제하고 질량분석기를 이용하여 관련 단백질들을 동정하였다. 그 연구에서 271개의 nucleolar protein들을 찾아냈으며 이 수치는 한 번에 nucleolus에서 확인할 수 있는 최대치를 기록하였다. 이렇게 발굴된 단백질의 30% 이상이 고유한 또는 동정이 안된 유전자 산물이라는 결론을 얻게 되었다. 이 연구 결과로 핵 안의 nucleolus는 ribosome-subunit를 생산한다는 것 이외에 또 다른 기능이 있음을 알게 되었다. 또한, 전사 억제제인 actinomycin D를 처리하면 세포 내 단백질의 위치는 예상치 못한 방향으로 재구성되므로 단백질의 역동적인 변화는 대사 상태에 따라서 다양한 모습을 보이게 된다.

각각의 다른 프로테옴 분석 접근 방법은 장단점을 보여준다. 질량분석기는 오염된 단백질들이 정제한 단백질 복합체를 따라다니므로 소량으로 발현되는 단백질들은 상실하기 쉽다. Mann등은 이러한 문제점을 주로 컴

연구동향

퓨터 기술로 극복하였다. Mann은 비교적 순수 정제가 손쉬운 nucleolus를 표적으로 선택하였다. 다른 방법으로서 hemagglutinin epitope이나 green fluorescent protein과 같은 tagging 단백질을 이용하는 세포 생물학적 방법은 오염원이나 소량 발현되는 단백질에 대한 대부분의 염려를 제거시키고 보다 자세한 소기관 내 발현 위치를 추적할 수 있다. 그러나 작은 단백질들은 분자량이 큰 단백질보다 tagging이 다소 어려우며 tagging 서열이 삽입되므로서 서열에 기초한 위치 신호가 파괴되어 잘못된 세포질 염색 패턴을 나타내게 된다.



<그림 1> Immunolocalization of epitope-tagged proteins

Tagging은 유전학적 실험에 유용한 yeast strain을 만들고 서로 다른 조건하에서 단백질 위치를 연구하는데 용이한데 반해 생화학적 방법은 일련의 정제된 단백질 세트를 만들며 차후의 연구에 유용하게 사용할 수 있다. 이러한 두 가지 방법을 이용한 대규모 단백질 위치 추적 프로젝트는 단백질의 세포 내 주소를 편견 없이 관찰하는데 도움을 준다. Boone는 yeast genome이 발표되고 나서 연구자들은 6,000개의 유전자 세트를 단지 신호 전달, 세포 주기 조절과 같은 관심거리 위주로 연구하여 왔음을 깨달았다고 한다. 편견 없는 방법의 대규모 단백질 위치 추적 프로젝트는 대규모 유전자의 실험적 증거를 확실히 제공해준다는 점에서 의미가 깊다.

그럼에도 불구하고 현재 진행되고 있는 대규모 고속 연구는 false-positive와 false-negative 결과들을 따라다니며 이것은 그 자체의 속성일 수 있음을 Rochester Medical Center의 Eric Phizicky는 인식하였다. 그러나 앞으로는 상호 검증방법의 개선으로 이러한 문제점을 줄여 나갈 것이다. 단백질 위치 지문은 yeast community의 대규모 데이터의 극히 한 일부분이지만 더 큰 그림의 필수적인 부분이기도 하다.

Snyder는 “단백질 위치 지문법”은 yeast two-hybrid나 TAP-tagging protein-protein interaction과 같은 대규모 프로젝트의 noise를 최소화할 수 있는 filter중의 하나이며 미지의 단백질 기능을 연구할 수 있는 중요한 이정표를 제공해준다고 한다. 한 예로 Snyder lab의 postdoc이었던 Yves Barral은 yeast의 bud neck에서 전에 보고된 것보다 훨씬 많은 tagging 단백질들을 찾아냈는데 그 중의 하나가 Hsl1으로서 세포 주기의 G2/M checkpoint를 모니터링한다는 사실을 알게되었다.

Snyder의 노력이후로 UC San Francisco에 있는 Erin O'Shea등은 C-말단 GFP tag를 이용한 유사한 대규모 단백질 위치를 살아있는 세포내에서 단백질 발현 수준과 위치를 추적하였다. 그러나 감도 문제 때문에 낮은 수준으로 발현되는 소량의 단백질들은 찾기가 어렵다는 문제점 때문에 두 가지 접근방법을 혼용하여 사용하고 있다(Huh 등, 2003. Nature 425:686-91).

단백질 위치 추적법은 세포 소기관 내에서의 분포를 자세하게 들여다 볼 수 있으며 단백질의 역동성과 복잡성을 발생 단계와 다른 환경 조건하에서 단백질-단백질 상호작용 추적에 이용할 수 있다. Mann은 이미 mitochondria와 centrosome과 같은 human 소기관에서의 단백질 동정에 상당한 진척을 보이고 있다. 머지않아 yeast를 모델로 한 단백질-위치 추적법은 human cell에 적용하여 체계적인 프로테오믹스 기능 연구에 한 발짝 더 나아가게 될 것이다.