

# 이차원 전기영동에 의한 단백질의 분리

우선희\*† · 김선림\*\* · 정승근\* · 김홍식\*

\*충북대학교, \*\*작물과학원

## I. 서 언

최근 유전체 염기서열의 고속 분석기법이 개발되면서 많은 생물 개체들의 유전체 염기서열이 밝혀지고 있다. 그러나 어떤 생물체의 유전체 염기서열이 밝혀졌다고 해도 최종적으로 완벽한 모양이 갖추어진 단백질을 분석하지 않고는 그 유전자의 세포 내 기능을 알 수 없는 것이다. 따라서 유전체 연구와는 별도로 프로테오믹스에 대한 연구가 필요하게 된다. 프로테오믹스에 있어서는 가능한 한 간편 신속하게 다수의 단백질을 분리 정제할 필요가 있다. 이차원 전기영동은 분리능력이 높기 때문에 단백질의 분리정제 방법으로서 가장 우수하고 고 효율성이 높다. 이차원전기영동은 디스크 또는 평판겔을 이용하여 일차원의 겔 전기영동을 수행한 후 일차원과는 다른 원리 또는 조건의 전기영동의 평판 겔 상부에 이차원의 겔을 설치하고, 일차원의 방향과 수직방향에 전기영동을 수행하여 단백질을 분리하는 방법이다. 프로테오믹스에 필요한 이차원 전기영동의 바람직한 조건으로는 1) 분리능력, 분해능력이 높다. 2) 산성으로부터 염기성까지 pH범위의 단백질을 분리할 수 있다. 3) 저분자로부터 고분자까지 모든 크기의 단백질을 분리할 수 있다. 4) 불용성 단백질을 분리할 수 있다. 5) 전기영동후, 단백질의 특성해석에 필요한 양의 단백질을 분리할 수 있다. 6) 재현성이 높다.

이 중에 분해 능력을 높이는 방법의 하나로서는 큰 크기의 겔을 이용하는 방법이다. O'Farrell의 이차원전기영동에서는 보통 일차원의 등전점 전기영동에 10 cm의 길이의 겔을 이용한다. 또, 이차원의 SDS polyacrylamide 겔 전기영동 (SDS-PAGE)에서는 10 cm×14 cm의 크기의 겔을 이용한다. Young 등(1983)과 Patton 등(1990)은 일차원의 겔을 길게하고, 이차원의 겔의 크기를 4-9배로하면, 분리능력이 10-100배를 높일 수 있다고 하였다. 큰 size의 겔을 이용함에 따라 분리능력이 향상된 것은 큰 겔에는 다량의 단백질 시료를 첨가할 수 있기 때문에 미량단백질의 검출이 가능하기 때문이다. 여기에서는 큰 size의 겔을 이용한 전기영동을 중심으로 해설하려고 한다. 또, 이차원전기영동은 염기성단백질 및 고분자량단백질을 분리하는데 매우 중요하다. 전기영동 단백질을 분리한 후, 단백질의 질량분석과 아미노산 서열분석을 수행하기 위하여 높은 순도의 전기영동용 시약을 이용하는 것도 중요하다.

†Corresponding author: (Phone) +82-43-261-2515 (E-mail) shwoo@chungbuk.ac.kr

## II. 일차원 등전점 전기영동

O'Farrell의 이차원전기영동(O'Farrell 1975; Klosé 1975)은 일차원에 겔 등전점전기영동을 이차원에 SDS-PAGE을 이용하는 방법으로서 이것에 의하여 중성부근을 중심으로 꽤 넓은 등전점영역의 단백질을 높게 분리할수 있는 능력을 가지고 있다. O'Farrell의 논문에서는 방사성을 표식한 대장균 단백질의 이차원전기영동에 의하여 1000개의 스팟을 고 분리능력으로서 검출할 수 있다는 보고가 있으며, 대장균에는 3000개정도의 단백질이 존재한다고 생각하면 전 단백질의 1/3을 한번에 전기영동으로 분별할 수가 있다. 일차원을 이용하는 겔등전점전기영동은 종들의 등전점이 있는 양성전해질의 담체(ampholyte), 즉 양성담체의 특성을 이용하여 단백질을 등전점에 따라서 겔상에 분별하도록 하는 것이다. 양성담체를 polyacrylamide겔에 첨가하여 하전하면 등전점에 따라서 양성담체가 겔속에 분포된다. 이 겔을 이용하여 단백질을 영동하면 단백질은 양성담체에 따라서 형성된 pH 분배를 이동하여 단백질의 등전점에 상당하는 pH부분에 정지한다. 이 방법은 수직 또는 수평 겔 모두가 이용 가능하다. 일반적으로 수직 전기영동방법이 간편하며 많이 사용된다.

### 1. 보존용액

#### 1) 시료용해액

요소 (ICN사, 고순도)	4.8 g	8M
NP-40 (Sigma사)	0.2 ml	.2%
Ampholine (pH 3.5-10)	0.2 ml	0.8%
2-mercaptethanol	0.5 ml	5%
(PVP-40	0.5 g	5%)

증류수로 10 ml로 한다. 필요량을 분주하여 -20°C에 보존한다

#### 2) Acrylamide용액 (30%)

Acrylamide (Bio-Rad 또는 Pharmacia사, 전기영동용)	28.38 g
BIS (Bio-Rad 또는 Pharmacia사, 전기영동용)	1.62 g

증류수에 녹여서 100 ml로 한다. 갈색병에 보존한다

#### 3) Ampholine (pH 3.5-10 및 pH 5-8)

4) 10% NP-40: 10 ml의 NP-40을 증류수에 녹여서 100 ml로 한다.

5) 0.01M 인산: 0.68 ml의 85%인산에 증류수를 첨가하여 1000 ml로 한다.

6) 0.02M 수산화 나트륨: 0.8 g의 수산화 나트륨을 증류수에 녹여 1000 ml로 한다.

7) 1% (w/v) agarose: 500 mg의 agarose (전기영동용)을 50 ml의 증류수에 현탁시켜 전자렌지에 가열 용해한다. 냉각하면 겔이 굳어지지만 가열용해하면 반복하여 이용할 수가 있다.

## 2. 장치

- 1) 일차원용 등전점전기영동 (제일화학, 일본에이도 (일본), Bio-Rad사, Pharmacia사)
- 2) 일차원용 glass관 (내경 3 mm, 길이 20 cm)
- 3) 영동용 안정전원

## 3. 실험조작

- 1) 등전점전기영동용 glass관을 준비하여 밑부분을 파라필림으로 막고 glass관을 수직으로 세운다.
- 2) 100 ml glass 비커속에 시약을 아래의 순서로 혼합하여 겔 용액을 조제한다.
 

요소:	4.8 g
30% acrylamide용액 (고순도)	1.16 ml
증류수	2.84 ml
10% NP-40	2.0 ml
Ampholine (pH 3.5-10)	0.25 ml
Ampholine (pH 5-8)	0.25 ml
10% 과류산 암모니움	15 $\mu$ l
TEMED	10 $\mu$ l
- 3) glass관의 상부의 1 cm높이까지 겔 용액을 주입한다. 이때 glass관속에 거품이 들어가지 않도록 주의한다. 거품이 들어갔으면 glass 관을 흔들어 거품을 제거한다.
- 4) 겔의 상부에 증류수를 위에 붓는다
- 5) 그대로 2-3시간 두어 겔을 굳게한다.
- 6) glass관을 등전점전기영동장치에 부착한다.
- 7) 겔 위의 남은 수분을 주사기로 제거하고 10  $\mu$ l의 시료용해액을 겔 위에 주입한다.
- 8) 음극측 전극조 (밑의 부분)에 0.02M 수산화나트륨을 넣고, glass관의 시료용해액의 위 부분에 0.01M 인산을 위에 붓고, 양극측 전극조(위의부분)을 0.01M 인산으로 채운다. O'Farrell (1975)은 위의부분을 음극, 밑의부분을 양극으로 하였다.
- 9) 300V (정전압)로서 15분간, 400V (정전압)로서 15분간, 500V (정전압)로서 30분간 전류를 준다.
- 10) 전류가 끝난 후 위의부분 전극조의 용액을 제거하고, glass관속에 용액을 주사기로 빼낸다.
- 11) 1.5 ml tube에 단백질시료를 준비한다.
- 12) 조제한 시료의 10-15  $\mu$ l을 겔 위에 주입한다. 잔존하는 위의부분에 있는 전극액과 시료가 반응하여 침전이 생기는 경우도 있기 때문에 주의한다. 그 위에 2배로 희석한 시료 용해액을 10  $\mu$ l 천천히 붓고, 또 그 위에 전극액을 붓는다.
- 13) 800V (정전압)로서 16-18시간 전기영동한다.
- 14) 1000V (정전압)로서 1시간 전기영동한다(전체가 12,000-16,000V · hr 되도록 한다).

이차원 전기영동에 의한 단백질의 분리

- 15) 증류수를 주사기에 넣고 겔과 glass관 사이에 물을 주입하면서 겔을 빼낸다. 이때 양극 측 겔속에 동선을 넣든지, 겔의 밑부분을 칼로 경사지게 절단을 하면 나중에 자른부분이 산성측인지 염기성측인지 확인할 수가 있다.
- 16) 작은병 (20 ml 용)에 전기영동후의 겔을 넣고 SDS-PAGE의 시료용 완충액을 5 ml를 첨가하고 20분간 shaking을 하면서 평형화한다. 이차원의 전기영동을 즉시 수행하지 않을 경우에는 -20°C에 보관한다.
- 17) 시료용 완충액을 다시 한번 교환하여 20분간 shaking을 하면서 평형화한다.
- 18) 1% agarose겔을 전자렌지에 가열하여 용해한다.
- 19) 이차원의 겔 위에 agarose용액을 첨가하여 거기에 평형화한 일차원의 겔을 거품이 들어가지 않도록 올려 놓는다. 이때 겔을 놓기 위하여 아크릴 판을 사용한다.

4. 등전점 전기영동에서 잘 일어나는 문제와 대책

문제점	원인	대책
겔이 굳어지지 않는다#	acrylamide의 순도가 낮다	1) 고순도의 acrylamide 및 BIS를 바꾼다 2) 고순도시약이 입수할수 없을 경우에 acrylamide를 정제한다
	과류산 암모니움 용액이 오래됐다	새롭게 조제한다
겔이 영동중에 빠져버린다	겔이 너무 아들아들하다	1) acrylamide의 농도를 높게한다 (3.5%에서 4%로) 2) glass관의 밑부분을 셀로판으로 덮든지. 전극조를 낮게 붙여서 겔이 빠져 떨어지는 것을 방지한다
겔이 glass에서 빠져 나오기가 힘들다	glass벽이 오염	1) 잘 닦은 glass관을 사용한다 2) 긴 주사침을 사용, glass관과 겔 사이에 물을 주입하여 뺀다
단백질이 염색되지 않는다	단백질 농도가 낮다	1) 등전점 전기영동을 이용하는 glass관의 내경을 큰 것으로 바꾸어 시료용액의 양을 증가한다 2) 단백질용액의 동결건조를 수행하여 농축한다 3) 찬 acetone침전과 TCA침전등을 수행하고 농축한다
	목적의 단백질이 시료용액에서는 추출되지 않는다	추출가능한 완충액에서는 추출한후 시료용액에 대하여 투석한다
	단백질이 영동후 등전점겔내에 존재하지 않는다	1) 사용하는ampholine을 다른 pH의 범위의 것으로 변경한다 2) 비평형등전점전기영동을 수행한다##
스팟이 중앙부에 집중한다	pH범위가 적당하지 않다	pH 5-8의ampholine으로 양의 비율을 증가한다

### 이차원 전기영동에 의한 단백질의 분리

문제점	원인	대책
스팟이 음극측 또는 양극측에 편중된다	pH범위가 적당하지 않다	1) 적절한pH범위의 ampholine으로 변경한다 2) 전극액의 종류를 바꾼다
저분자측에 파상에 염색되는 밴드가 나타난다	ampholine에 의한 밴드	등전점전기영동겔을 SDS-PAGE 시료완충액에서 충분히 평형화한다

문제점	원인	대책
	영동시간이 짧다	영동시간을 연장한다
	방해물이 혼입	1) 탈지한다 2) PVP-40을이용하여 polypenol 화합물을 제거한다 3) Aceton, TCA침전등을 수행하고 방해물의 혼입을 적게한다
단백질 스팟이 되지 않고 파도를 치듯이 연결되고 텔링이 있다	침전물	1) 충분히 원심을 수행하여 침전물을 제거한다 2) 경우에 따라서는 초원심을 수행한다
	프로테아제 (protease)에 의한 분해	1) 프로테아제 저해제를 첨가한다 2) 단백질의 추출은 저온하에서 수행한다 3) 90°C에서 2-3분간 가열하여 프로테아제의 활력을 없앤다

#pH가 높다. (pH9-11)ampholine만을 이용하면 겔은 중합하지 않는다. 환원제 2-mercapethanol 이 존재하에서도 겔은 중합하지 않는다

##등전점 전기영동에서는 등전점의 높은 단백질을 분리하는 것이 어렵다. 높은 pH영역에서 단백질을 분리하는 경우에는 우선 음극전기영동액을 0.02M 수산화나트륨을 2% (v/v) TEMED로 바꾸는 것도 좋다. 그래도 목적의 단백질을 잘 분리할 수 없을 경우에는 비평형등전점 전기영동을 수행한다.

### III. 이차원 전기영동

이차원에는 대체적으로 SDS-PAGE가 이용되고 있지만, 분리하는 단백질의 종류에 의하여서는 저BIS농도전기영동, 농도분배겔 전기영동, 트리신 -SDS-PAGE등을 이용하는 것이 있다. 여기에는 가장 많이 이용되고 있는 SDS-PAGE의 전기영동법의 특징과 방법에 대하여 설명을 한다.

#### 1. SDS-PAGE 전기영동

환원조건에서 SDS에 의한 단백질을 처리하면 단백질은 완전히 변성하고 polypeptide에 해리된다. polypeptide는 환원조건하에서 약 1.4배량 (w/w)의 SDS와 결합하고 SDS복합체를 형성한다. 형성된 SDS복합체는 과잉의 류산이온에 의하여 polypeptide 고유의 전하에 관련하지 않고 부에 하전하여 일정한 전장에서 일정한 속도로서 이동한다. 따라서 SDS polypeptide 복합체를 SDS겔에서 영동하면 polyacrylamide겔의 분자 작용에 의하여 분자량의 기초를 두어 단백질을 분별할 수가 있다.

SDS-PAGE에는 1종류의 pH의 완충액을 이용하는 연속 완충액계와 복수의 pH의 완충액을 이용하는 불연속 완충액계가 있다. 불연속 완충액계에는 분리겔 위에 분리겔 보다 pH의 낮은 농축겔을 부어 전기영동을 수행한다. 여기에 단백질은 효율적으로 농축되어졌기 때문에 분리겔 위에 극히 선명한 밴드 양상(band pattern)을 얻을 수 있다. Laemmli(1970)에 의하여 시작된 불연속 완충액계를 이용하는 SDS-PAGE에 의하여 분자량 5000-200,000정도의 단백질을 높은 분리능력으로 분리하는 방법을 서술한다.

## 2. 보존용액

보존용액은 4°C에서 저장하면 장기간의 보존을 할 수 있다. 냉각한 용액을 이용하여 겔을 만들면 겔속에 거품이 나오는 것이 있다. 냉각한 용액을 이용할 때에는 동결건조기로 수행하는 것이 좋다. 실온에서 방치한 보존용액을 이용하여 겔을 만들려고 할 경우에는 특히 동결건조기는 필요치 않다.

### 1) 분리겔/농축겔용 acrylamide용액 (acrylamide : BIS=30: 0.8, w/w)

acrylamide (전기영동용)	300 g
BIS (전기영동용)	8 g

증류수에 녹여 1000ml로 하고 광이 없는 곳에서 보존한다

### 2) 분리겔용 완충액 (1M Tris-염산완충액, pH8.8/0.27% SDS)

Tris	121.1 g
SDS	2.7 g

약 800 ml의 증류수에 녹이고 염산으로 pH를 8.8로 조정한다. 최종용량을 1000 ml로 한다.

### 3) 농축겔용 완충액 (0.25 M Tris-염산완충액 pH6.8/0.2% SDS)

Tris (전기영동용)	30.3 g
SDS	2 g

약 800 ml의 증류수에 녹이고 염산으로 pH를 6.8로 조정한다. 최종용량을 1000 ml로 한다.

### 4) 10% (w/v)과류산암모늄 : 1 g의 과류산암모늄 (전기영동용)을 10 ml의 증류수에 녹인다. 냉장 보존한다.

### 5) TEMED를 냉장보존한다

### 6) 전극액 (전기영동액)

Tris	9.0 g
Glycin	43.2 g
SDS	3.0 g

증류수에 녹여 3000으로 한다.

7) BPB용액: 0.1 g의 BPB를 100 ml과 10% (v/v) glycerol 수용액을 첨가하여 잘 녹인다.

8) 시료용완충액

Glycerol	10 ml
0.5M Tris-염산완충액 (pH 6.8)	12.5 ml
SDS	2.5 g
2-mercaptethanol	5 ml

증류수를 첨가하여 100 ml로 한다. 밀폐시켜 보존한다

9) 분자량 마커용액: 고분자량 마커와 저분자량 마커(HMW-marker kit와 LMW-marker kit, Amersham Pharmacia Biotech사)을 겔의 농도에 따라서 이용한다.

### 3. 장치

1) SDS-PAGE장치

2) 영동용 안정전원 (제일화학, 일본에이도 (일본), Bio-Rad사, Pharmacia사)

### 4. 실험조작

1) 세로, 가로의 glass판 (220 mm×200 mm×5 mm), 실리콘 tube, 대형 클리프로 4곳을 묶어 실험대 위에 놓는다.

2) 200 ml 비커속에 분리겔 용액을 조제한다. 거품이 나지 않도록 각반기로 서서히 돌리면서 조립한 glass판 사이로 주입한다(겔의 중합속도는 과류산암모니움과 TEMED의 농도, 온도, pH, 용존산소, 불순물등의 영향을 받는다. 실온이 높을 경우에는 중합이 빠르기 때문에 과류산 암모니움과 TEMED의 양을 감소시키든지 겔의 용액을 조금씩 냉각한다).

3) 1ml의 증류수를 겔위에 붓는다.

분리겔 용액의 조성 (겔 크기 (180 mm×190 mm×1 mm))

조성	10% <sup>#</sup>	12%	14%
분리/농축겔용 acrylamide용액	14.3 ml	17.7 ml	20.0 ml
분리겔용 완충액	16.4 ml	16.4 ml	16.4 ml
증류수	13.0 ml	9.6 ml	7.3 ml
10% 과류산 암모니움	300 μl	300 μl	300 μl
TEMED	50 μl	50 μl	50 μl

<sup>#</sup>polyacrylamide겔의 농도는 %T와 %C로서 나타난다. %T은 겔용액 100 ml속에 acrylamide와 BIS의 질량, %C은 %T중에 BIS의 비율로 나타난다. 여기에서 겔의 농도는 %T로 표시한다.

4) 실온에서 1시간에서 하루밤을 그대로 둔다.

5) 100 ml 비커속에 농축겔 용액을 조제한다

이차원 전기영동에 의한 단백질의 분리

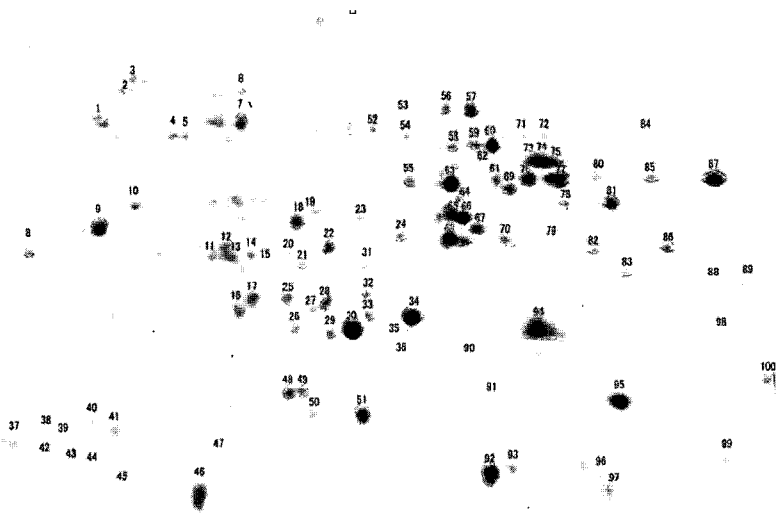
		최종농도
분리/농축겔용 acrylamide 용액	1 ml	5%
농축겔용 완충액	3 ml	0.125M
증류수	2 ml	
10% 과류산암모늄	30 $\mu$ l	
TEMED	20 $\mu$ l	

분리겔 위에 증류수를 제거한 후 농축겔 용액이 거품이 나지 않도록 각반기로 서서히 돌리면서 분리겔용 위에 붓는다.

- 6) 실온에 20분간 그대로 둔다.
- 7) 농도겔 위에 남은 중합용액을 제거한다.
- 8) 시료용 완충액에 대하여 shaking (평형화)한 일차원의 겔을 농축겔 위에 놓고 가열한 1%(w/v) agarose용액에 고정한다.
- 9) 클리프 와 실리콘 tube을 제거한다.
- 10) glass판을 전기영동장치에 설치하고 영동용 전극액을 가득 채운다(소량의 BPB용액을 상부 음극 전극액조에 첨가한다).
- 11) 40 mA (정전류)에 BPB가 겔의 선단에 이동할때까지 전기영동한다.
- 12) 전원을 끄고 glass 판을 전기영동장치로 부터 떼어 낸다.
- 13) 두꺼운 칼이나 스펀을 이용하여 glass 판을 떼어 낸다.
- 14) 분리겔 용과 농축겔용 사이를 칼로 자르고 분리겔을 western blotting에 사용하는지, CBB용액등에 넣어 단백질을 검출한다.

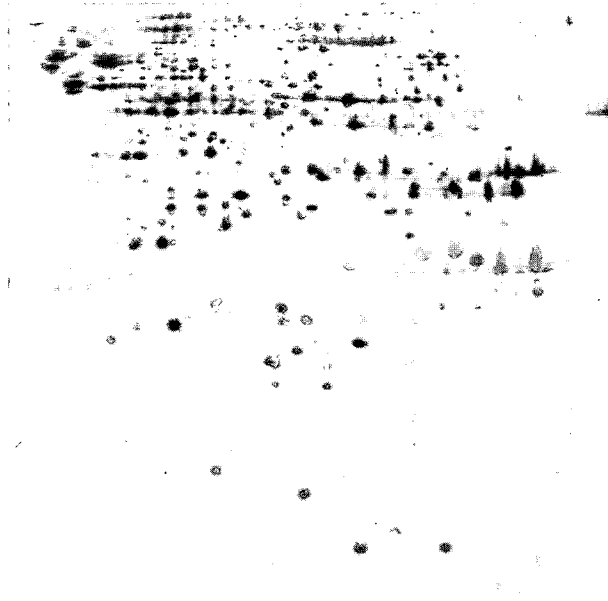
5. 결과

1) 이차원전기영동에 의한 벼 배아 단백질의 분리





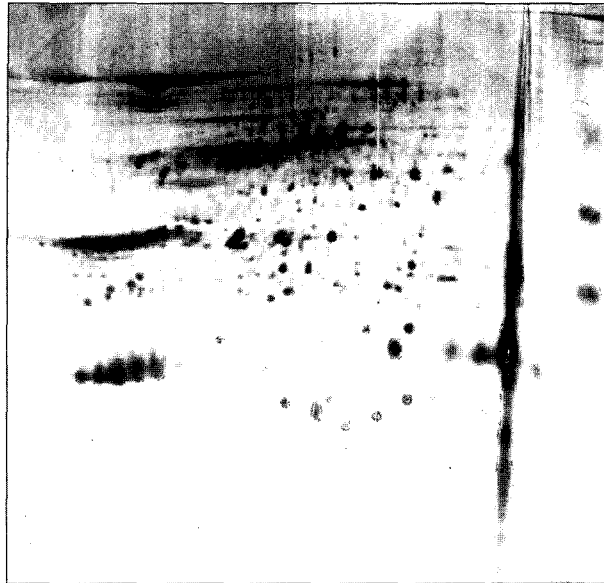
2) 이차원전기영동에 의한 벼 성숙 단백질의 분리



3) 이차원전기영동에 의한 밀 배유 단백질의 분리



4) 이차원전기영동에 의한 콩 단백질의 분리



참고문헌

1. Cleveland, D. W., Fischer, S. G., Kirschner, M. W., and Laemmli, U. K. (1977) Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulphate and analysis by gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 252 : 1102-1106.
2. Fukuda, M., Islam, N., Woo, S. H., Yamagishi, A., Takaoka, M., and Hirano, H. (2003) Assessing MALDI/TOF as a means of rapid embryo protein identification in rice. *Electrophoresis* 24 : 1319-1329.
3. Hirano, H. (1982) Varietal differences of leaf protein profiles in mulberry. *Phytochemistry* 21 : 1531-1518.
4. Hirano, H. and Watanabe, T. (1990) Microsequencing of proteins electrotransferred onto immobilizing matrices from polyacrylamide gel electrophoresis: Application to an insoluble protein. *Electrophoresis* 11 : 573-580.
5. Hirano, H. (1997) Screening of rice genes from the cDNA catalog using the data obtained by protein sequencing. *J. Protein Chemistry* 16 : 533-536.
6. Ichimura, H., Yamamoto, K., Havukkala, I., Ohta, I., Mukai, Y., Hirose, S., Song, J., Nagasaki, H., Shinozuka, Y., Hamamatsu, C., Itadani, H., Kojima, S., Yamanouchi, U., Hamada, M., Ohkubo, N., and Nakamura, Y. (1995) Rice cDNA classification into non-redundant groups. *Rice Genome* 4 (2) : 1.

7. Islam, N., Woo, S. H., Tsujimoto, H., Kawasaki, H., and Hirano, H. (2002) Proteome approaches to characterize seed storage proteins related to ditelocentric chromosomes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proteomics* 2(9) : 1146-1155.
8. Ito, K., Kimura, Y., Sassa, H., and Hirano, H. (2000) Identification of the rice 20S proteasome subunits and analysis of their N-terminal modification. *Jpn. J. Electroph.* 44 : 205-210.
9. Komatsu, S., Kajiwara, H., and Hirano, H. (1993) A rice protein library: A data-file of rice proteins separated by two-dimensional electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.* 86 : 935-942.
10. O'Farrell, P. H. (1975) High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250 : 4007-4021.
11. Pearson, W. R. and Lipman, D. J. (1988) Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85 : 2444-2448.
12. Sasaki, T., Song, Y., Koga-Ban, E., Matsui, F., Fang, H., Higo, H., Nagasaki, M., Miya, E., Murayama-Kayano, T., Takiguchi, A., Takasuga, M., Niki, K., Ishimaru, H., Ikeda, Y., Yamamoto, Y., Mukaim, I., Ohta, N., Miyadera, I., Havukkala, Y., and Minobe, Y. (1994) Toward cataloguing all rice genes: large-scale sequencing of randomly chosen rice cDNA from a callus cDNA library. *Plant J.* 6 : 615-624.
13. Tsugita, A., Kawasaki, A., Uchiyama, Y., Kamo, M., Miyatake, N., and Nozu, Y. (1994) Separation and characterization of rice proteins. *Electrophoresis* 15 : 708-720.
14. Woo, S. H., Fukuda, M., Islam, N., Takaoka, M., Kawasaki, H., and Hirano, H. (2002) Efficient peptide mapping and its application to identify embryo proteins in rice proteome analysis. *Electrophoresis* 23 : 647-654.
15. Woo, S. H., Higa, A., Kimura, M., Jong, S. K., and Yamaguchi, I. (2003) Proteome analysis of wheat lemma. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67 : 2486-2491.
16. Woo, S. H., Kim, H. S., Song, B. H., Lee, C. W., Park, Y. M., Jong, S. K., and Cho, Y. G. (2003). Rice proteomics : A functional analysis of the rice genome and applications. *J. Plant Biotechnology.* 30 : 281-2

## ***Analysis of Protein by Two-dimensional Gel Electrophoresis***

***Sun-Hee Woo<sup>†</sup>, Sun-Lim Kim\*, Seung-Keun Jong and Hong-Sig Kim***

*Department of Agronomy, College of Agriculture, Life and Environment, Chungbuk National University, 48 Gaeshin-dong, Heungduk-ku, Cheongju, Chungbuk 361-763, KOREA*

*\*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-100, KOREA*

*+82-43-261-2515, shwoo@chungbuk.ac.kr*