

초고속 대량 프로테오믹스를 위한 Nano-LC/ESI-MS/MS 시스템

Nano-LC/ESI-MS/MS System for Ultrahigh-Throughput Proteomics

김진영
한국기초과학지원연구원

단백질 체를 대상으로 하는 대량 프로테오믹스 분석에서는 분석 목적, 분석 장비, 소요시간 등을 고려한 실험의 디자인이 매우 중요하다. 현재의 bottom up 방식의 MS/MS 질량분석법을 이용하는 경우 펩타이드를 분리하고 질량분석 데이터를 얻는 시간을 고려하여, 단백질체 시료에 따라 몇 주에서 몇 시간 정도까지 걸릴 수 있는데, 앞으로,

비교 프로테오믹스, 표적 단백질 추적 등의 진단 프로테오믹스 분야에서는 좀 더 효율적인 throughput이 요구될 것이다.

프로테오믹스에서 단백질은 펩타이드 상태로 만들어진 후 MS, MS/MS 분석을 통해 확인된다. 최근 새로운 질량분석기의 개발과 감도의 증가로 1초에 4개의 MS/MS 질량스펙트럼을 얻을 수 있을 정도의

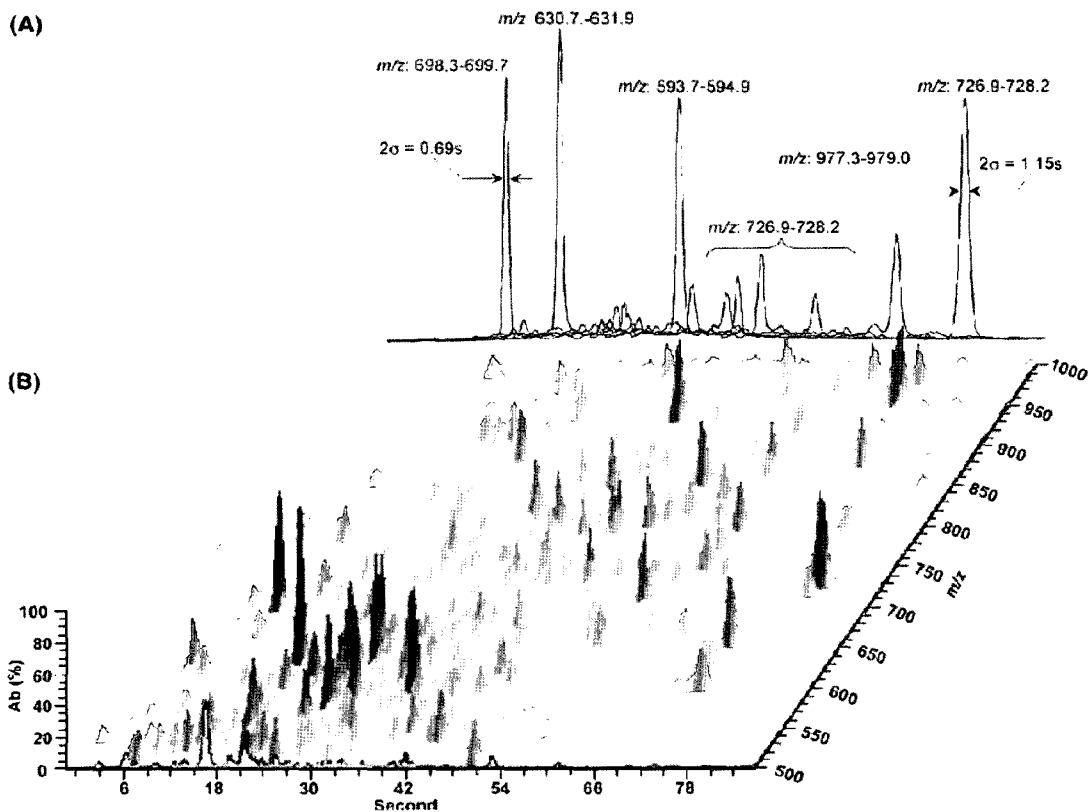


그림 High-speed Nano-LC/ESI-MS. (A) 3D-MS chromatogram obtained from analysis of a $0.5\mu\text{g}$ *S. oneidensis* global tryptic digest sample and (B) selected ion chromatograms showing the separation peak widths used for evaluating the peak capacity.

매우 빠른 속도로 MS 및 MS/MS 분석이 가능하다. 그러나 질량분석 데이터는 시료의 복잡한 정도 (complexity)에 많은 영향을 받기 때문에 RPLC 등을 사용하여 질량 스펙트럼을 얻는 것이 훨씬 유용하다. 컬럼을 통과하는 동안 펩타이드 혼합물 시료는 분리 (separation), 농축(concentration) 및 탈염(desalting)이 이루어져 양질의 질량스펙트럼을 얻을 수 있도록 하는데, 빠른 속도의 질량분석기와 함께 빠르고 효과적인 펩타이드 분리가 이루어지도록 할 수 있다면 초고속 대량 프로테오믹스의 분석범위 (dynamic range)를 매우 효과적으로 넓힐 수 있을 것이다.

최근, 빠르고 효과적인 분리를 위해 고압에서 사용할 수 있는 Nano-LC 시스템이 본격적으로 상용화되고 있다. 정지상과 이동상 사이의 효과적인 analyte mass transfer를 위해 컬럼 내경은 수십 μm 수준으로, 충전물 (packing material) 크기는 $1\mu\text{m}$ 수준으로 작아지고 있으며, 펌프는 8,000 ~ 20,000 psi 정도의 고압 조건에서, 수백 nL/min 이하의 용리속도로 재현성 있는 기울기 용리 (gradient)를 수행할 수 있다. 이런 Nano-LC 시스템에서 펩타이드 혼합물은 band width

2-5초 이내로 분리되며 수십 배의 농축효과를 얻을 수 있다. 이로 인해 양질의 MS 그리고 MS/MS 질량스펙트럼을 얻을 수 있으며 더불어 펩타이드와 단백질 확인에 한 신뢰도와 실험의 재현성을 높일 수 있다.

Shen, Y와 Smith, R. D. 등 (Anal. Chem., 2005, 77, 6692.)은 $\sim 1\mu\text{m}$ 크기의 C18 컬럼 충전물을 이용하여, $50\mu\text{m}$ i.d., 20cm 컬럼을 만든 후 20,000 psi의 압력 조건 아래 *S. oneidensis*의 프로테오믹스 분석에서 50분 동안 4000여개의 펩타이드를 확인하고 1000여개의 단백질을 확인하였다. 또한 $50\mu\text{m}$ i.d., 5cm 컬럼을 5000 psi의 압력조건에서 사용하여 그림과 같은 이온 크로마토그램을 얻었다. 현재 이러한 Nano-LC/ESI-MS/MS 시스템이 분석할 수 있는 프로테오믹스의 농도범위 (dynamic range)는 10^{3-4} 정도이고 혈액시료 안의 단백질 농도에 견주어 비교할 때 $\mu\text{g/mL}$ 수준이다. 이와 같은 Nano-LC 시스템은 효과적인 펩타이드 분리를 위해 고압인 조건이 필요하다는 것이 단점이긴 하지만 초고속 대량 프로테오믹스 분석을 위한 가장 효과적인 방법이 될 것이다.