

## 단백질 상관관계 프로파일링에 의한 포유동물 세포 소기관 단백질 지도

최 종 순 (한국기초과학지원연구원 프로테오믹스팀)

**세포** 생물학자들은 세포 소기관내 발현 단백질들을 GFP 같은 tagging에 의한 발현 단백질의 위치와 기능에 대한 정보를 시스템적으로 획득한다. 그러나 생화학자들은 세포내 막으로 분리된 소기관과 단백질 복합체에 대한 정보를 밀도구배 원심분리법 (density gradient ultracentrifugation) 방법에 의해 각 단백질들을 화학적, 물리학적, 효소학적 특징을 분석한다. 세포내 소기관들의 생화학적, 현미경적 특성을 규명하기 위하여 특정 소기관내에서 발현되는 표준 단백질들은 소기관을 세포 파쇄 후, 분획하는데 중요한 역할을 한다. 최근 프로테오믹스학은 소기관 조성 (organellar biogenesis)을 연구하는데 응용되어 왔다. 질량분석기에 의한 프로테오믹스학은 소기관 분획의 단백질 조성을 연구하는데, 특히, 세포성 소기관 단백질들뿐만 아니라 주요 핵단백질 들을 연구하는데 주로 사용되어왔다. 고감도 질량분석기와 높은 순도로 소기관을 분리하는데 어려움 때문에 소기관 단백질들을 불순물 없이 분리 확인하는 것은 여전히 도전적인 연구 분야이다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 단백질 상관관계 프로파일링 (protein correlation profiling, PCP)이라는 기술이 개발되었다 (Andersen 등, Nature 2003. 426:750-754). 즉, 질량분석기적 감도 프로파일을 밀도 구배 원심분리기를 통한 공통적인 프로파일을 규명하는데 사용되었으며 각 구배 분획을 직접적으로 Western blot을 통해 재확인하였다. 연속 분획으로부터 수천 펩티드의 질량분석기 감도로 부터 만들어진 분포 곡선으로부터 평균 표준분산 값

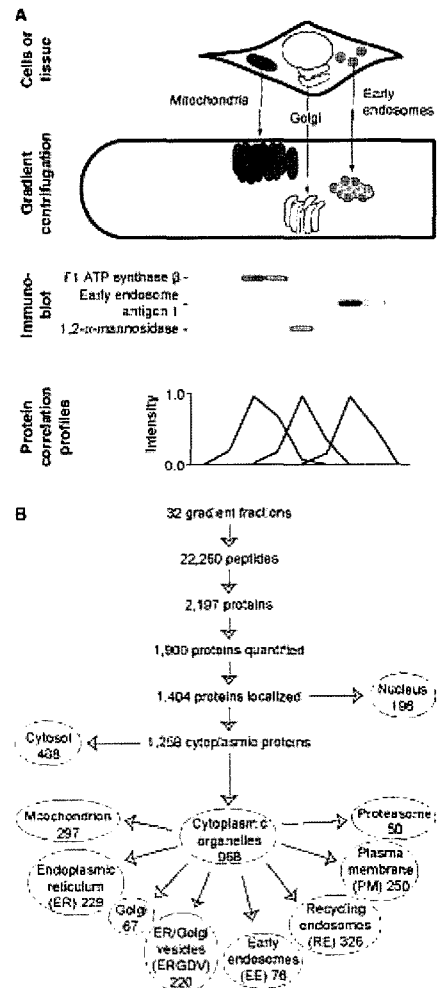


그림 1. 구배 원심분리에 의한 소기관 프로파일링. (A) 연속 밀도구배 원심분리에 의한 소기관 분리, 각 분획들은 특정 바이오마커 단백질들의 Western blot에 의해 확인하며 동시에 PCP로 측정. (B) 생쥐 간의 PCP 분석 결과, 각 소기관에 분포된 단백질 숫자들.

(x2 value)을 이용한 공통 프로파일에 대한 유사성으로 특정 소기관 분획의 표준 단백질을 나타내는 지표로 사용하였다. 본 연구에서는 PCP를 전체 세포로 확장하여 10개의 세포내 소기관에 분포되어 있는 1,404개의 단백질들의 위치를 규명하였다. 이 수치는 전체 소기관 단백질의 39%에 해당하는 수치로서 프로테오믹과 게놈 데이터를 통합함으로써 소기관 생성에 관련된 함께 발현되는 유전자와 cis-조절 유전자 모티

브 그리고 잠정적인 전사 조절체들의 네트워크를 확인하는데 크게 기여할 수 있다. 이들 기초적인 데이터들은 생화학적, 세포 생물학적 방법으로 재확인하였으며 기능성 유전체 데이터세트로 병합하여 세포내 소기관의 생성 기작에 대한 인식을 확대하는데 기여하였다. (Foster et al., 2006. A mammalian organelle map by protein correlation profiling. Cell 125, 187-199)

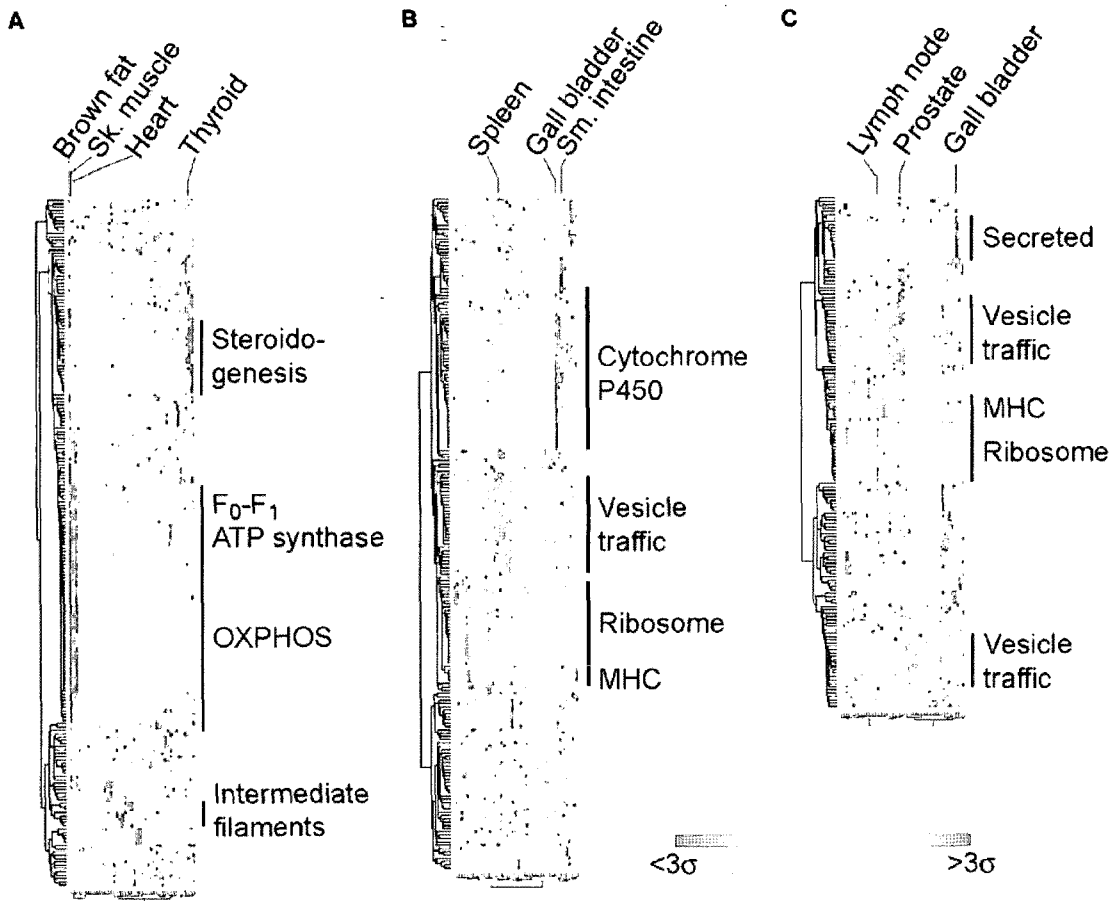


그림 2. 계층 클러스터링과 발현 인근분석. 미토콘드리아 (A), 소포체 (B) 또는 소포체/골기체 낭 (C)에 분포되어 있는 단백질들에 해당하는 유전자들을 44마리 생쥐의 간으로부터 획득한 mRNA 발현 정보를 이차원적 계층 클러스터링하여 표시한 것으로서 청색과 적색의 음영은 평균 유전자들의 표준분산 ( $3\sigma$ )보다 각각 작거나 큰 조직내 발현 빈도를 나타냄. MHC, major histocompatibility locus; OXPHOS, oxidative phosphorylation.