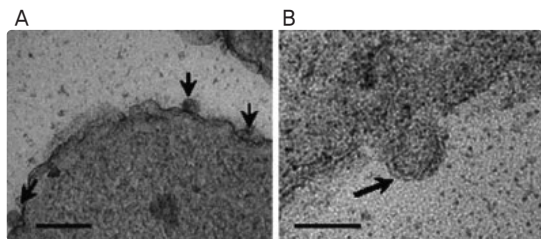


박테리아 유래 세포 밖 소포체의 단백질 분석

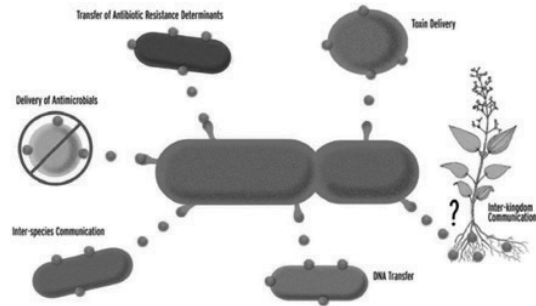
김대겸, 고용송 (포항공과대학교 분자·생명과학부), 황대희 (포항공과대학교 시스템생명공학부)

조직의 미세환경에서(microenvironment) 세포간 정보 교환은(intracellular communication) 생명현상을 일으키는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 기존 세포간 정보 교환에 대한 연구는 soluble factor나(growth factors, cytokines, chemokines 등) 세포 간 접촉 (cell-cell contacts), 나노 튜브(nano-tube) 같은 tunneling machinery의 context에서 주로 연구되어 왔다. 최근 들어 세포 밖 소포체가 새로운 세포간 정보 교환 메커니즘으로 관심을 받고 있다. 세포 밖 소포체는 보편적인 세포 기작으로 사람에서 박테리아까지 모든 생명체에서 발견되고 있다. 진핵 세포에서 유래한 세포 밖 소포체의 경우, 적혈구 분화, 면역 반응 조절 등에 관여하며, 또한 암 세포 미세환경에서는 암의 진행, 전이, 혈관형성 등에 중요한 역할을 하면서 질병 진단 marker로서도 관심을 받고 있다(They et al., 2002).

세포 밖 소포체는 1960년대에 처음 전자 현미경으로 발견되었으나, 상당 기간 동안 세포의 부분이 떨어져 나온 단순한 물질이거나, 세포 사멸이나 세포 분열 시 배출되는 지질들이 모여 생긴 소포체라고 여겨졌다. 그러나 1970-90년대에 여러 가지 조건에서(정상조건, lysine 부족 조건, 인산 부족 조건) 여러 생명체에서(사람, 플라크톤, biofilm 형성 박테리아 등) 보편적으로 소포체가 발견됨으로써 세포 밖 소포체 배출이 능동적인 과정이라는 생각이 자리잡았다. 20년이 지난 지금 세포 밖 소포체는 단백질 배출의 중요한 경로이자 세포간 정보교환에 중추적인 역할을 담당하고 있음이 알려지고 있다. 세포 밖 소포체는 수십-수백 나노미터 직경을 가진 소포체로서 막 단백질, luminal 단백질, DNA, miRNA, mRNA 등을 포함하고 있다고 알려져 있다. 이들 세포 밖 소포체의 component 들이 타겟 세포에 전달되면서 상기된 여러 생명 현상을 일으킴이 실험적으로 보여지고 있다. 이번



【그림 1】 E.coli DH5α 유래 세포 밖 소포체의 전자현미경 사진



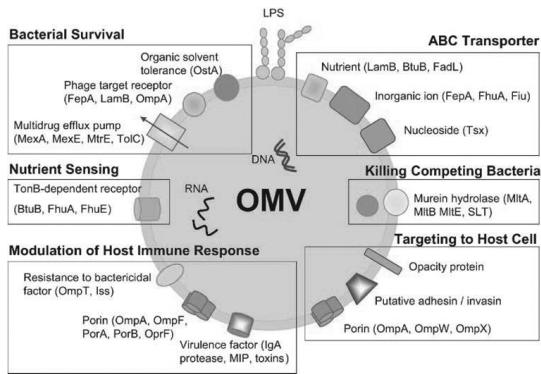
【그림 2】 박테리아 유래 세포 밖 소포체의 역할

소식지에서는 특히 박테리아에서 유래된 세포 밖 소포체에 초점을 두고, 최근 포스텍의 고용송 교수팀과 공동연구를 통해 밝혀낸 박테리아 유래 세포 밖 소포체들의 potential function에 대해 논의해 보고자 한다.

박테리아 유래 세포 밖 소포체는 그람 양성 (예. *S.aureus*) 및 그람 음성(예. *E.coli*, *N.meningitidis*, *P.aeruginosa*, *H.pylori* 등) 박테리아에서 내놓는 약 20 - 200 nm 직경을 가진 소포체이며, 독성 전달, DNA 전달, 종간 신호 전달 등의 역할을 함이 알려져 있다(Mashburn-Warren and Whiteley, 2006).

박테리아 유래 세포 밖 소포체는 세포 외막 단백질, 주변 세포질 단백질, 세포질 단백질, DNA, RNA, 그리고 여러 지질을 포함하고 있음이 개별 연구를 통해 알려지고 있다. 이중 많은 독성 인자(virulence factor)나 신호 전달 물질이 단백질의 형태를 하고 있으며 숙주의 면역 반응 유도나 종간 신호전달을 담당하고 있다고 알려져 있다. 따라서 세포 밖 소포체의 기능을 이해하기 위해서는 이들 단백질 리스트를 확보하는 것이 중요한 단서가 될 수 있다. 지금까지 몇 연구에서 기존의 프로테오믹스 기술을 이용하여 100 여개 정도의 단백질을 동정되었다. 본 연구실은 포스텍 고용송 교수실과의 공동연구를 통해 2-DE, 1D SDS-PAGE와 같은 단백질의 복잡도를 낮추기 위한 분리 방법들을 최적화함으로써 *E.coli* DH5α 세포 밖 소포체의 경우 기존의 프로테오믹스 방법보다 보다 포괄적인 141개의 단백질을 동정하는데 성공하였다(Lee et al., 2007).

현재까지 알려진 그람 음성 박테리아 유래 세포 밖 소포체 단백질에서는 세포 밖 소포체의 기능을 설명할 수 있는 많



[ 그림 3 ] 그람 음성 박테리아 유래 세포 밖 소포체의 구성 성분

은 단백질이 동정되었다. 첫 번째로 숙주의 면역반응을 조절할 수 있는 단백질로 항세균물질 저항성을 가지는 OmpT, Lss가 발견되었고 독성인자로서 IgA protease, MIP가 숙주 면역 시스템에서 쉽게 인지한다고 알려진 여러가지 Porin이 발견되었다. 두 번째로 박테리아 생존에 관련된 Multidrug efflux pump나 유기용매 저항 단백질이 발견되었다. 세 번째로 다른 경쟁 박테리아를 공격하는 Murein hydrolase가 발견되었다. 기타 다른 단백질들은 그림 4에서 참조할 수 있다. 이러한 박테리아 유래 세포 밖 소포체가 함유하고 있는 단백질의 리스트는 박테리아가 숙주를 감염시킬 때 주요 박테리아-숙주 상호작용에서 세포 밖 소포체가 중요한 역할을 함을 암시하고 있다.

또한 최초로 그람 양성 박테리아에서 세포 밖 소포체가 분

비됨을 밝혀 내었으며, 그람 양성 박테리아인 *S.aureus* 유래 세포 밖 소포체에 대한 단백체를 분석하였다(Lee et al., 2009). 그 결과 항생제 내성에 관여되는 b-Lactamase, PBP1, PBP2가 발견되었고 숙주 내성에 관여되는 IgG 결합 단백질은 Sbi가 발견되었다. 이를 통해 우리는 *S.aureus* 유래 세포 밖 소포체의 potential role을 유추해 볼 수 있다.

이러한 단백질 연구를 통해 박테리아 유래 세포 밖 소포체가 새로운 단백질 분비 시스템이자 세포 간 정보 교환 체로서 박테리아 생존과 숙주 내에서의 병원성 발현에 중요한 역할을 하고 있음을 제시하는 연구 결과들이 나오고 있다. 예를 들어 세포 밖 소포체는 단일 신호전달 단백질이나 독소와는 달리 단백질 복합체나 여러 가지 종류의 lipid를 포함할 수 있어 synergistic한 숙주 내 반응을 일으킬 수 있을 것이라 예상할 수 있다. 단백질 분석 방법을 사용하여 서로 다른 종에서 유래하거나 다른 조건에서 유래하는 세포 밖 소포체를 비교할 수 있다면 그 기능을 연구함에 있어 매우 유용할 것이다. 또한 단백질 분석을 이용하여 세포 밖 소포체가 함유하는 지금까지 알려지지 않았던 병원성 관련 단백질들의 동정과 이들의 기능을 연구한다면 단백질 분비 시스템으로써 세포 밖 소포체와 숙주와의 관계에 관한 새로운 의미를 정의할 수 있을 것이다. 이러한 이해를 바탕으로 세포 밖 소포체는 백신 개발 및 박테리아에 대한 항생물질을 개발을 위해 사용될 수 있어 의학적 유용성도 크다고 할 수 있을 것이다.

[ 인용문헌 ]

Lee, E.Y., Bang, J.Y., Park, G.W., Choi, D.S., Kang, J.S., Kim, H.J., Park, K.S., Lee, J.O., Kim, Y.K., Kwon, K.H., et al. (2007). Global proteomic profiling of native outer membrane vesicles derived from *Escherichia coli*. *Proteomics* 7, 3143-3153.

Lee, E.Y., Choi, D.Y., Kim, D.K., Kim, J.W., Park, J.O., Kim, S., Kim, S.H., Desiderio, D.M., Kim, Y.K., Kim, K.P., et al. (2009). Gram-positive bacteria produce membrane vesicles: proteomics-based characterization of *Staphylococcus aureus*-derived membrane vesicles. *Proteomics* 9, 5425-5436.

Mashburn-Warren, L.M., and Whiteley, M. (2006). Special delivery: vesicle trafficking in prokaryotes. *Mol Microbiol* 61, 839-846.

Thery, C., Zitvogel, L., and Amigorena, S. (2002). Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* 2, 569-579.