

## Stable isotope labeling을 이용한 comparative proteomics 연구

이건원, 변상요

아주대학교 화학생물공학부 생명공학전공

전화 (031) 219-2457, FAX (031) 219-1612

Comparative proteomics의 한 방법으로 stable isotope labeling을 이용하여 생체 내의 단백질들의 양적인 변화, 특정한 경우에 발현된 단백질과 발현이 억제된 단백질, 생체의 정상 상태와 비정상 상태의 단백질 변화 등을 비교할 수 있다.

Standard protein 또는 protein mixture를 trypsin을 이용하여 proteolysis시키고 펩타이드들의 primary amine group을 각각 isotope labeling했다. 이때 control protein과 sample protein을 ( $^1\text{H}_3$ )-N-acetoxysuccinimide와 ( $^2\text{H}_3$ )-N-acetoxysuccinimide로 반응시켜 각각을 acetate와 trideuteroacetate로 유도체화시켰다. N-acetoxysuccinimide는 물에 잘 녹고 pH 7.8에서 쉽게 primary amine과 반응한다. 반응 후, hydroxylamine을 첨가하여 pH 10에서 상대적으로 적은 농도로 생성되는 ester를 hydrolyze시켰다. 그리고 control protein과 sample protein을 동량으로 섞은 후, 상대적인 농도를 matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry를 이용하여 분석하였다.  $^1\text{H}_3$ -과  $^2\text{H}_3$ -acetate로 isotopically coding된 펩타이드들은 atomic mass가 3의 차이가 나게 되고, 이는 mass 분석을 통해 얻은 peak에서 확인할 수 있었다. 이로써 2-D gel에서 spot들의 intensity와 위치를 이용한 gel image 분석법 보다 단백질의 정량, 정성 분석을 정확히 비교 실험할 수 있다.

### 참고문헌

1. Minghui Gerg, "signature-peptide approach to detecting proteins in complex mixtures" (2000), journal of chromatography A, 870, 295~313
2. Asish Chakraborty, "global internal standard technology for comparative proteomics" (2002), journal of chromatography A, 949, 173~184
3. Junyan Ji, "strategy for qualitative and quantitative analysis in proteomics based on signature peptides" (2000), journal of chromatography B, 745, 197~210
4. Fred E. Regnier, "comparative proteomics based on stable isotope labeling and affinity selection" (2002), journal of mass spectrometry, 37, 133~145