

벼의 등숙에 따른 복합단백질의 post-translational modification 또는 multigene family로 발현하는지?

우선희^{1*}, 김세영², 김태선¹, 조성우¹, 김진영², 조건², 정근욱³, 조용구¹,
이철원¹, 정승근¹, 박영목², 최종순²

¹충북대학교 농업생명환경대학 식물자원학과, ³농화학과,

²한국기초과학지원연구원 프로테오믹스팀

Multiple spots in 2-D gel : Multigene family or Post-translational Modification in Response to Seed Maturation in Rice ? -

Sun-Hee Woo¹, Se-Young Kim¹, Tae-Seon Kim¹, Seong-Woo Cho¹, Jin Young Kim², Kun Cho²,
Keun-Yook Chung³, Yong-Gu Cho¹, Chul-Won Lee¹, Seung-Keun Jong¹, Young Mok Park²
and Jong Soon Choi²

¹Dept. of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763

²Proteomics Analysis Team, Korea Basic Science Institute, Daejeon

³Dept. of Agricultural Chemistry, Chungbuk National University, Cheongju 361-763

연구목적

본 연구는 프로테오믹스 연구를 통해서 쌀의 등숙과정 중에 발현되는 단백질들의 변화 양상을 살펴보았다. 탄수화물 생합성에 관계하는 효소들이 multi spot로 존재하는 것을 발견하였고, 이들이 multigene family로 존재하면서 등숙과정에서 다르게 post-translational modification이 되며 어떻게 발현되는지 알아보았다.

재료 및 방법

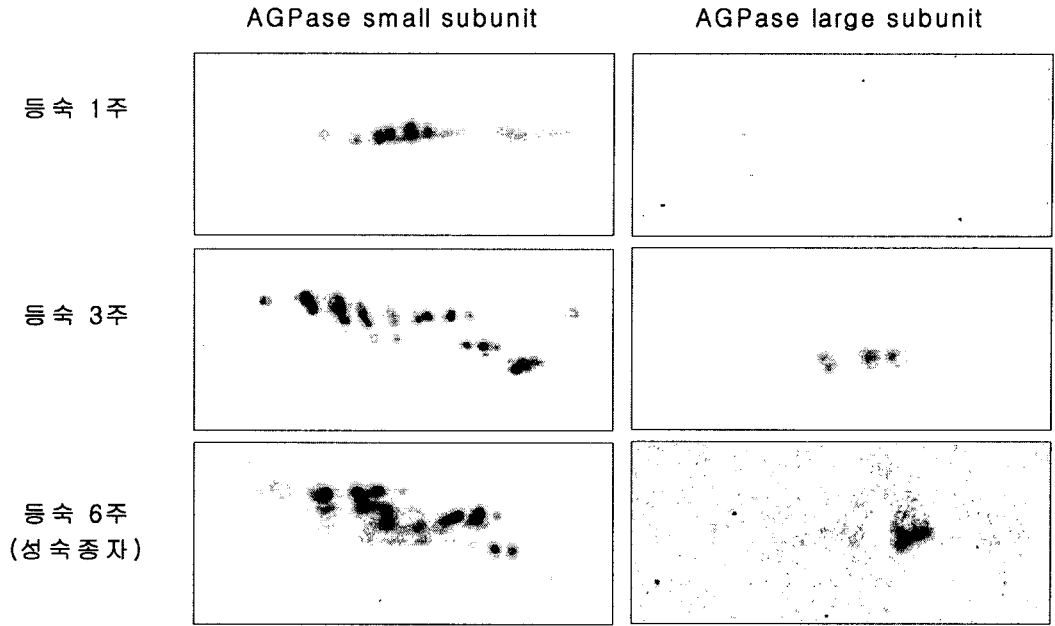
등숙간 벼 샘플-이차원전기영동에 의한 분리-ICAT-ESI Q-TOF/ MS

결과 및 고찰

2-D gel 을 이용한 프로테오믹스 분석을 통하여 쌀의 등숙과정과 쌀 종자의 발생과정에서 일어나는 단백질의 발현양상을 조사하였다. 재료로는 개화 후 1주, 3주 및 6주차의 종자를 이용하였다. 2D gel 분석을 통하여 1,000 개 이상의 단백질 스팟을 확인할 수 있었으며, 그 중에서 240 개 스팟을 ESI Q-TOF MS로 분석하여 199 스팟의 단백질을 동정 할 수 있었다

동정된 199개의 단백질들은 총 아미노산 숫자의 21.3%에 해당 부분을 MS로 동정된 펩타이드들로 확인할 수 있었다 (단백질 coverage = 21.3%). 199개의 동정된 단백질 중에서 99개만이 다른 단백질로 밝혀졌으며, 그 중 39개의 단백질은 210개의 단백질 스팟으로 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 39개의 단백질 중 12개가 3개 이상의 단백질 스팟으로 존재 하였다. 특이할 점은 3개 이상의 스팟을 보여주는 12개의 단백질들 중 9개가 탄수화물 생합성에 관여하는 효소들이라는 점이다. 이들 탄수화물생합성에 관여하는 효소들은 multigene family에 의해 발현이 되며 또한 isoform들이 protein processing을 포함하여 다른 post-translational modification되어 있는 형태로 발견되었다. 따라서 쌀의 종자에서 일어나는 탄수화물 생합성의 조절 기작이 여태까지 생각되어졌던 기작 보다도 훨씬 복잡한 방법으로 조절되고 있음을 본 연구를 통해서 밝혀내게 되었다.

Immunoblotting



A

```

spot_179 -----FSLKPLVPRLSSELLGLEVVMAPDCIG 26
spot_15-16 MATKRSVGLGEADLGGKVFVRADLNPLDDAQKITDDTRIRASIPTIKYLLEKGARVILASHLGRPKGVTPK***** 100
spot_161 *****K*****S*****V*****NSN*****AV*****MGN*SR*V*C*****Y*****N*S** 100

spot_15-16 EEVEKLAALPDGGVLLLENVRFYKBEKNDPEFAKNLASVADLYVNDAFGTAHRAHASTEGVTKFLMPSVAGFLMQLDLYLVGAVANPKKFFAAIYGG 126
spot_179 *****R***** 200
spot_161 ***Q***G**E*****A*****AL*V*****A**K***** 200

spot_15-16 SKVSSKIGVIESLLAKVDILILGGGMIFTFYKAQGLAVGKSLVEEDKLELATSLIETAKSKGVKLLLPDVTVVADKFAADARSKIVPATAIPDGWMLDV 226
spot_179 ***** 300
spot_161 *****NT*****S*****D**K***KA***S*****I***p**N*****I 300

spot_15-16 GPDSIKTFAEALDTRKTVINWNGPMGVFEFENFAAGTDAIAKQLAELTGKGVTTIIGGDSVAARVERAGLADK----- 298
spot_179 *****MSHISTGGGASLELELEGKPLPGVLALDE 400
spot_161 *****S*****I*****D*****E*V*****SG*****V***** 400
    
```

B

Enzyme	Spot Num.	Coverage (%)	Access. Num.	Exp. MW/pi	Obs. MW/pi	Group	Spot pattern WAP: 1, 3, 6
Phosphoglycerate kinase	15	11	gi 129916	42.1/5.64	44/5.0	III	
	16	11			39/5.85		
	161	12	gi 15219412	42.105/5.49	43/4.5	II	
	179	19	gi 28172907	42.096/5.64	33/4.75	II	

Fig. Multiple protein spots of phosphoglycerate kinase are products of two gene family and posttranslational modification. (A) Alignment of genes corresponding four different spots of phodphoglycerate kinase. Only amino acids differ from upper amino acids were indicated. Asterisk represents same amino acid with upper sequence. Small bar means amino acid in the site was missing. (B) Characteristics of each spot. Spot pattern means that the expression pattern of the spot during 1, 3 and 6 week after flowing.