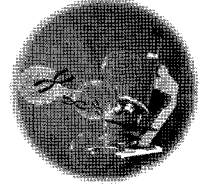


대장균의 단백질-단백질 상호작용 네트워크

최종순
한국기초과학지원연구원



단백질들이 세포내에서 특정 기능을 수행하기 위해서는 단일 구성 요소보다는 단백질 복합체의 구성요소로서 작용해야 한다. 발현가 능한 단백질과 단백질의 상호작용 네트워크에 대한 계

놈 수준에서의 연구가 최근 들어 모델 생명체를 중심으로 진행되고 있다. 대장균은 오랫동안 모델 생명체로서 많은 연구가 수행되어 왔지만 게놈수준에서 단백질 복합체에 대한 연구는 최근에서야 보고되었다 (Butland,

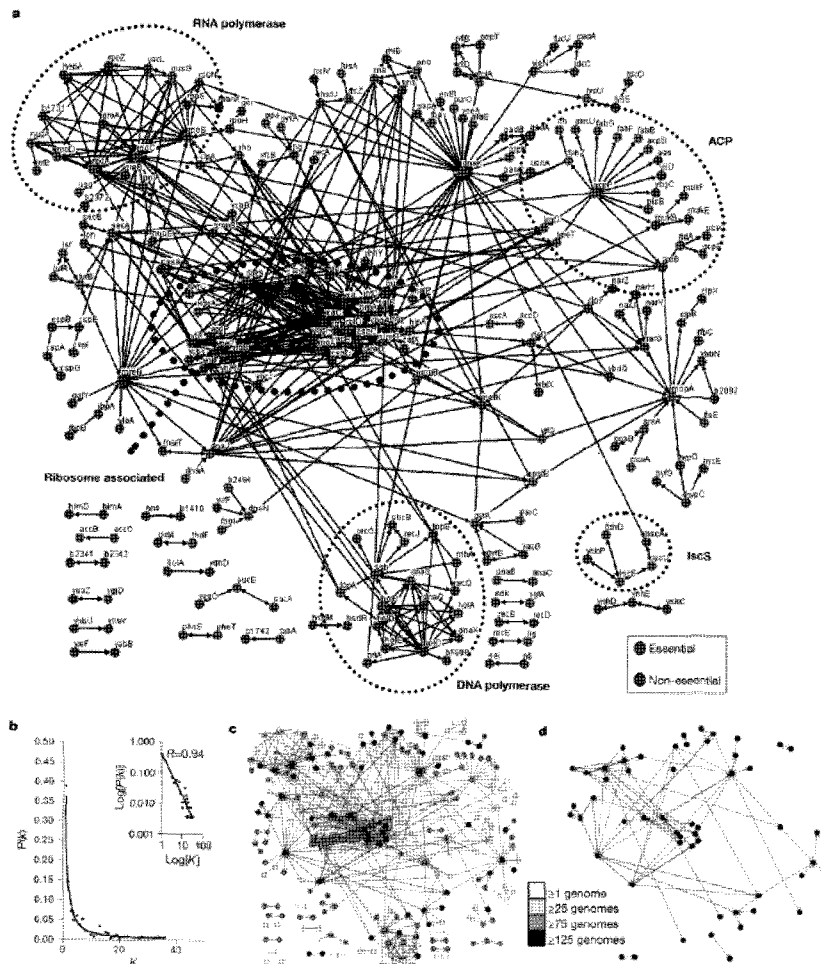


그림 1. 대장균 단백질-단백질 상호작용 네트워크의 특징. (a) 실험적으로 증명된 단백질 복합체의 네트워크 (b) 단백질당 확인된 상호작용 (k)을 빈도함수 (P(k))로 그린 단백질 연결 노드의 분포, (c) 미생물 계놈사이에 보존된 단백질 네트워크, (d) 고도로 잘 보존된 단백질 네트워크 (125개 이상의 계놈간의 공통 노드, BLAST score ≤ 50).

2005. Nature). 최초로 게놈수준에서의 기능성 단백질-단백질 상호작용에 대한 복합체 연구는 효모균에서 시도되었다 (Galvin, 2002. Nature). 연구방법은 tandem affinity tagging 또는 sequential peptide affinity tagging (Zeghouf, 2004. J Proteome Res)과 mass spectrometer를 사용하여 표적 유전자 C-말단에 double tagging한 후, λ 재조합시스템을 이용하여 형질전환시켜 affinity chromatography 방법으로 분리 정제한 다음 SDS-PAGE에서 구성 단백질들을 분리하여 각 단백질을 MALDI MS로 확인하였다. 대장균내 1,000개의 open reading frame (전체 게놈의 약 23%에 해당)의 유전자를 C-말단에 표지하였다. 전체 857개 단백질들은 적어도 한 세균에서는 필수적인 수용성 non-ribosomal protein들로서 이 중 198개는 가장 잘 보존된 유전자들이며 전체 648개가 순수 분리 정제에 성공하여 상호작용 단백질들을 질량분석기로 동정하였다. 구성 단백질을 동정하기 위한 분석 전략은 gel-based MALDI-TOF 방법과 gel을 거치지 않고 직접적으로 구성 단백질 복합체들을 trypsin으로 분해하여 LC-MS로 동정하는 shotgun 방법을 사용하였다. Pilot study로서 RNA polymerase 복합체를 분석하기 위하여 core subunit β (RpoB)를 tagging하였을 때, 필수 elongation factors (NusA, NusG)와 특이적인 sigma factor들 (RpoH, RpoS, RpoN, RpoD)과 accessory proteins (RpoZ, RapA, YacL)이 함께 동정되었다. 특히, YacL은 이전에 RNA polymerase 복합체 구성 단

백질로 알려지지 않은 새로운 단백질이었다. DNA polymerase 복합체의 구성성분 분석에서는 HolC, HolD, HolE, DnaE, DnaQ을 각각 bait로 정제하였을 때, α (DnaE), τ , γ (DnaX), δ (HolA), δ' (HolB), ϵ (DnaQ), χ (HolC), ψ (HolD), TopB, RecQ, Ssb등이 상호보완적으로 확인되었다. 단백질 복합체의 검증방법은 bait로 fishing out된 prey를 다시 bait로 하여 상호간에 검출되는지를 확인하였는데 53%의 신뢰도를 보임으로서 효모균에서 분석한 TAP/MS와 비교할 때, 상당히 믿을만한 것으로 나타났다. 확인된 85%의 상호작용들은 단백질 상호작용 데이터베이스 (DIP, BIND, STRING, Prolinks DB)에 등록되지 않은 새로운 것들로 나타났다. 확인된 상호작용 데이터의 네트워크 분석결과 'scale-free' 특징을 보이고 있었으며 15개 이상의 연결 노드를 가지고 있는 단백질들 대부분이 hub protein으로서 다른 미생물 종간에서도 상당히 높은 서열상동성을 나타내는 필수 단백질로 관찰되었다. 대장균의 단백질 상호작용 네트워크 연구 결과는 아직 특징이 밝혀지지 않은 단백질의 기능을 유추하고 세균 단백질복합체의 입체 구조를 해석하는데 기여할 것이다. 현재 약 30종의 세균 단백질들이 처방약물로 표적화 하고 있기 때문에 종간에 보존되고 필수적인 단백질들에 대한 지식이 축적될수록 광대역 미생물 항생제를 설계하는데 용이하게 활용될 수 있을 것이다.