

싱크로트론 소각 X-선 산란을 이용한 단백질 나노튜브의 구조와 상호작용

Structures and Interactions of Protein Nanotubes Using Synchrotron Small Angle X-ray Scattering (SAXS)

이지민 · 이준철 · 송채연 · 최명철 | Jimin Lee · Juncheol Lee · Chaeyeon Song · Myung Chul Choi

Department of Bio and Brain Engineering, KAIST,
291 Daehak-ro, Yoseong-gu, Daejeon 305-701, Korea
E-mail: mcchoi@kaist.ac.kr

1. 서론

우리 몸을 구성하는 세포 내부에는 필라멘트 형태의 다양한 자기 조립 물질이 존재한다. DNA, RNA와 같이 유전 정보를 저장하거나 전달하는 역할을 하는 구조체가 있는 반면 마이크로튜블(microtubule), 액틴(actin), 중간섬유(intermediate filament, IF)와 같이 세포골격(cytoskeleton)으로 구분되어 세포의 형태를 유지하고 운동성을 부여하는 등 특정한 기능을 가지는 물질이 있다. 이 중 마이크로튜블은 지름이 25 nm로 가장 굵고 가운데가 비어있는 원기둥 형태이며 지속길이(persistence length) 역시 ~mm scale로 가장 뻗뻗해 잘 휘어지지 않는다. 또한 전하밀도를 살펴보면 약 -1 e/nm^2 으로 매우 높은 수치를 보인다. 마이크로튜블은 작은 단위체로부터 조립된 계층적 구조(hierarchical structure)를 가지는데 α, β 두 부분으로 구성된 튜블린 이성체(tubulin dimer)가 일렬로 연결되어 프로토펴라멘트(protofilament)를 형성하고, 이 프로토펴라멘트 약 13개가 모여 하나의 마이크로튜블을 형성한다(그림 1).¹⁻⁴

마이크로튜블은 크게 세 가지 역할을 수행한다.⁵ 첫째, 세포에 가해지는 외부의 물리적 자극에 대응하여 세포의 형태를 유지한다. 둘째, 세포 분열시 염색체를 양 쪽 끝에서 잡아당기는 방추사(spindle fibers)를 구성하는데, 세포의 양 극(pole)에서 자라난 마이크로튜블이 적도 부근의 염색체를 잡은 뒤 빠른 속도로 줄어들어 서로 반대쪽 끝으로 끌고 간다. 이는 마이크로튜블의 동적 불안정성(dynamic instability)에 의해 일어나는 과정이다. 세 개의 인산기를 가지고 있는 뉴클레오티드인 GTP가 β -튜블린과 결합하면 튜블린이 흰 모양에서 곧게 변한다. 이것을 GTP cap이라고 하며, GTP가 GDP로 가수분해되면 튜블린이 다시 휘어지면서 양 옆의 프로토펴라멘트와의 결합력이 떨어진다. 따라서 GTP-튜블린의 농도가 높으면 가수분해가 일어나기 전에 GTP-튜블린이

Author



이지민

2013
현재

KAIST 바이오및뇌공학과 (학사)
KAIST 바이오및뇌공학과
(석사과정)



이준철

2013
현재

KAIST 바이오및뇌공학과 (학사)
KAIST 바이오및뇌공학과
(석사과정)



송채연

2003
2005
2010
현재

부산대학교 물리학과 (학사)
부산대학교 물리학과 (석사)
부산대학교 물리학과 (박사)
KAIST 바이오및뇌공학과
연구교수



최명철

1998
2000
2005
현재

KAIST 물리학과 (학사)
KAIST 물리학과 (석사)
KAIST 물리학과 (박사)
KAIST 바이오및뇌공학과 조교수

마이크로튜블의 말단에 붙음으로써 곧은 모양을 유지하고, GTP-튜블린의 농도가 낮아지면 가수분해 속도가 GTP-튜블린의 결합 속도보다 빨라져 결국 마이크로튜블의 분해(depolymerization)가 일어나게 된다. 이 때 GDP-튜블린으로 구성된 프로토티라멘트는 안과 밖이 뒤집힌 고리 형태를 만든다. cryo-TEM 결과를 독일 Mandelkow 그룹이 보고한 바 있다.⁶ 셋째 기능인 물질 수송은 신경세포의 축삭 돌기, 액손(axon)에서 두드러진다. 핵이 위치한 세포체(cell body)에서 길게 뻗어 나온 액손은 ~ μm 단위에서 ~m 단위까지 그 길이가 매우 다양한데 세포체에서 만들어지는 다양한 단백질들을 말단까지 보내기 위한 도로, 혹은 철도 역할을 하는 것이 바로 마이크로튜블이다. 키네신(kinesin)과 같은 운동단백질(motor protein)이 신경 전달물질 등을 들고 세포를 따라 정렬된 마이크로튜블을 따라 일정한 방향성을 가지고 이동한다.

세포 내에는 마이크로튜블 결합 단백질(microtubule associated proteins, MAPs)들이 여럿 존재하며, 이들은 마이크로튜블이

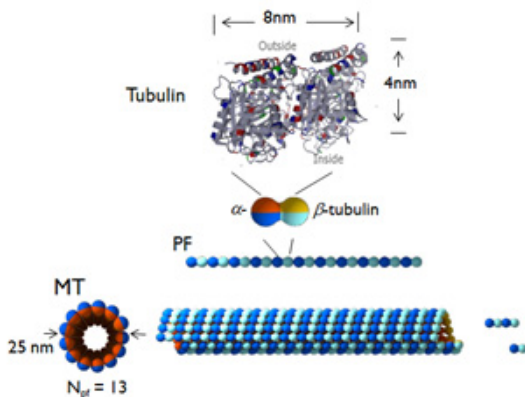


그림 1. 마이크로튜블의 계층적 조립 구조. 4 nm×5 nm×8 nm의 튜블린 이성체를 기본 단위로 한 13개의 프로토티라멘트가 25 nm 지름의 단백질 나노 튜브를 형성한다.

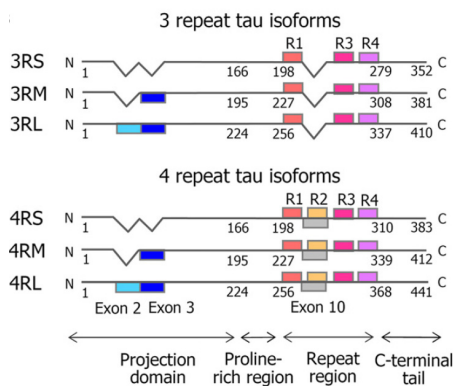


그림 2. 인간의 중추신경계에 존재하는 6개의 타우 동형. 결합 도메인이 3개 혹은 4개인 3R 혹은 4R 타우가 있고, 아미노말단 영역의 유무에 따라 short(S), medium(M), 그리고 long(L)으로 구분한다.

다양한 기능을 할 수 있도록 돕는 역할을 한다. 그 중 타우(tau)라는 단백질은 주로 액손에 분포하고 있는데, 400여 개의 아미노산으로 이루어진 미접힘 단백질(unfolded protein)로 일반적인 생체 단백질이 가지는 3, 4차 구조가 발견되지 않는다.^{7,8} 또한 하나의 사슬에 양전하와 음전하가 모두 존재하는 양성 고분자 전해질(polyampholyte)에 해당한다. 인간의 중추신경계에는 타우의 반복 도메인(repeat domain) 개수가 3개인지, 4개인지에 따라, 혹은 아미노말단(N-terminus) 쪽의 돌출 도메인(projection domain)에서 29개의 특정 아미노산 구조가 전혀 삽입되어 있지 않은지, 1개 또는 2개가 있는지에 따라 6개의 동형(isoform)으로 나누어진다(그림 2). 이 중 반복 도메인이 평균적으로 양전하를 띠고 있어 마이크로튜블에 높은 친화력(affinity)을 보이며 강하게 결합하는 부분으로 알려져 있다. 비결합 영역인 돌출 도메인은 양전하가 많은 부분과 음전하가 많은 부분으로 구성되어 있어 마치 쌍극자(dipole) 같은 구조를 보여준다(타우의 순 전하(net charge)는 약 5-20 정도이다).⁹⁻¹⁴

타우는 마이크로튜블의 조립 동역학(assembly dynamics)을 조절하며 마이크로튜블의 안정성(stability)을 유지하는데 큰 기여를 한다.¹⁵⁻²¹ 타우가 이러한 역할을 제대로 하지 못할 경우 신경 세포 사멸로 이어지며 알츠하이머병(Alzheimer's disease) 또는 파킨슨병(Parkinson's disease)과 같은 신경 퇴행성 질환을 유발하게 된다. 특히 국내에 '치매'로 알려진 알츠하이머병은 두 가지 중요한 유발 요인을 갖는데, 그 중 하나가 과인산화된 타우 단백질로 이루어진 신경섬유매듭(neurofibrillary tangles, NFTs)이다. 이러한 신경섬유매듭은 마이크로튜블에서 해리되어 나온 타우 단백질들의 부산물인지 세포 기능을 방해하여 사멸을 일으키는 주요 기작인지 아직 확실하게 밝혀지지 않았고 이에 대해 많은 연구가 활발히 진행되는 중이다(그림 3).²¹⁻²⁵

이렇게 마이크로튜블의 모양과 기능을 조절하기 위해서는 단위체인 튜블린 뿐만 아니라 주변 환경에서 상호작용하는

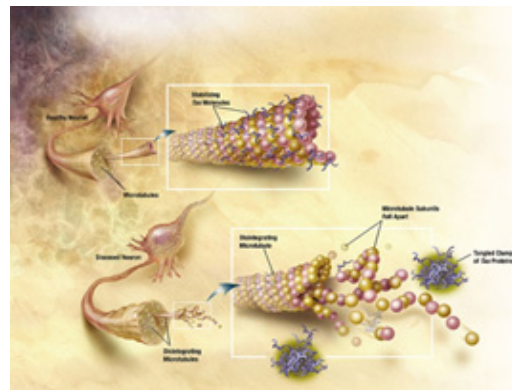


그림 3. 정상 세포(위)에 비해 알츠하이머병 환자의 경우(아래) 타우 단백질이 과인산화로 인해 마이크로튜블로부터 떨어져 나가고, 이는 마이크로튜블의 붕괴로 이어져 결국 뉴런의 물질수송에 지장을 초래한다(출처: NIH progress report on Alzheimer's disease).

마이크로튜브 결합 단백질(microtubule-associated-protein)의 역할이 매우 크다. 이러한 상호작용의 기본적인 원리를 알기 위해서 타우를 마이크로튜브에 직접 결합시켜 그 변화를 살펴보고 타우의 결합 도메인의 양전하와 튜블린의 음전하 사이의 정전기적 상호작용(electrostatic interaction)이 얼마나 큰 비중을 차지하는지 알아보는 것이 중요하다.

나노스케일의 생체분자를 연구하는 열쇠로서 싱크로트론 소각 X-선 산란(small angle X-ray scattering, 이하 SAXS)을 사용하는 것은 몇 가지 큰 의미를 지닌다. 일단 단백질과 같은 생체 분자는 알맞은 버퍼를 사용하여 온도, 이온 농도, pH와 같이 분자 주변을 생리적인 조건으로 유지하는 것이 중요한데, 결정 구조를 가지지 않고 용액 내에 산재되어 있는 분자를 X-선 산란으로 본다는 것은 쉽지 않은 일이었다. 충분한 산란 강도(scattering intensity)를 확보하기 위하여 잘 설계된 시료 준비 과정이 필요하고 결정 구조와는 다르게 넓은 피크(peak)가 나타나는 산란 패턴을 해석하기 위한 모델 피팅 과정 역시 중요하다. 국내외 소수의 그룹이 최근 독자적인 방법을 개발하여 세포 물질을 연구 중이며 대표적으로 미국 UCSB의 Safinya, 독일 Max Flanck의 Mandelkow, 스페인 Andreu 그룹 등이 있다. 광각 X-선 산란(WAXS)이 서브 나노미터에서부터 수 나노미터 스케일의 DNA 혹은 세포막 구조를 측정하기에 적당한 반면, SAXS는 수 나노미터에서 수백 나노미터의 계층적 조립 구조를 분석하기에 좋은 장비이다. 산란 강도는 형성 인자(form factor)와 구조 인자(structure factor)로 구성되어 있으며 형성 인자로부터 마이크로튜브의 모양과 크기에 대한 정보를 알아내고, 구조 인자로부터 각 마이크로튜브 사이의 거리와 정렬(ordering) 형태를 알 수 있다. 본 특집에서는 SAXS를 이용해 분석한 마이크로튜브의 구조와 상호작용에 대해서 알아보고자 한다.

2. 본론

2.1 마이크로튜브의 조립 구조에 타우 단백질이 미치는 영향 신경 세포의 엑손에서 중요한 역할을 하는 타우 단백질이

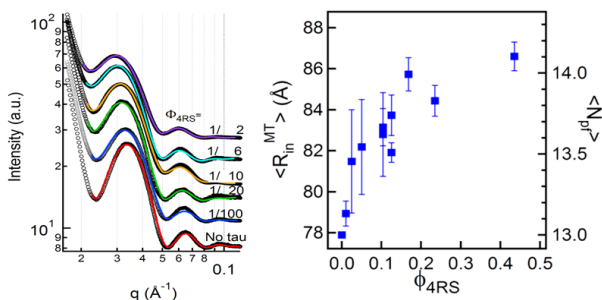


그림 4. 마이크로튜브의 구조에 대한 타우의 영향을 보여주는 SAXS 결과: 4RS 타우의 농도가 증가할 때 산란 곡선이 낮은 q 값으로 이동하는데, 이는 마이크로튜브의 반지름이 커짐을 의미한다.

마이크로튜브의 구조에 어떻게 영향을 미칠 것인지 알아보기 위해서 마이크로튜브에 타우 단백질을 혼합하여 SAXS 실험을 수행하였다. 그림 4는 여러 동형들 중 4RS 타우에 대해 타우-마이크로튜브 혼합체를 만들고 SAXS 실험을 통하여 형성 인자를 측정된 결과이다. 마이크로튜브를 속이 비어있는 원통 구조로 가정 한 뒤 알려진 튜블린의 전자 밀도(electron density) 값을 적용하여 만든 모델을 이용하여 마이크로튜브의 반지름을 알아내기 위해 피팅(fitting) 과정을 수행하였다.

타우의 농도를 증가시키면 산란 곡선이 낮은 q 영역으로 이동하게 된다. 여기에서, 역격자 공간(reciprocal space)과 실공간(real space)의 역관계를 생각해보면 낮은 q 영역으로의 이동은 내부 반지름의 증가를 의미한다는 것을 알 수 있다. 형성 인자를 피팅한 결과를 살펴보면 마이크로튜브의 내부 반지름이 7.8 nm에서 8.7 nm로 11% 가량 늘어나는 것을 확인할 수 있는데, 이는 마이크로튜브를 구성하는 프로토피라멘트의 개수가 증가했다고 설명할 수 있다. 마이크로튜브를 구성하는 프로토피라멘트 개수는 평균 13개이지만 실제로는 11개부터 15개까지의 다양한 분포를 가지고 있다. 이러한 개수의 변화는 마이크로튜브 사이의 프로토피라멘트 교환이나 마이크로튜브를 형성하지 않고 자유롭게 떠다니는 프리 튜블린(free tubulin)이 끼어 들어간 것으로 해석할 수 있다. 이는 타우가 튜블린에 결합하여 곡률이 감소한 결과로 추측되지만 정확한 변화 메커니즘에 대해서는 분자 수준의 연구가 좀 더 필요하다.

그림 5는 다양한 농도의 KCl을 첨가하여 마이크로튜브에 타우가 결합 할 때 주변 이온의 농도가 어떠한 영향을 끼치는지 살펴보기 위해 수행한 실험의 결과이다. 1가 이온을 형성하는 KCl을 최대 300 mM까지 첨가시킬 경우 마이크로튜브의 반지름이 점진적으로 감소한다. 그림 6은 마이크로튜브와 결합하는 타우의 결합 친화성(binding affinity)을 측정된 결과로 KCl이 300 mM 첨가된 경우 결합한 타우의 양이 절반

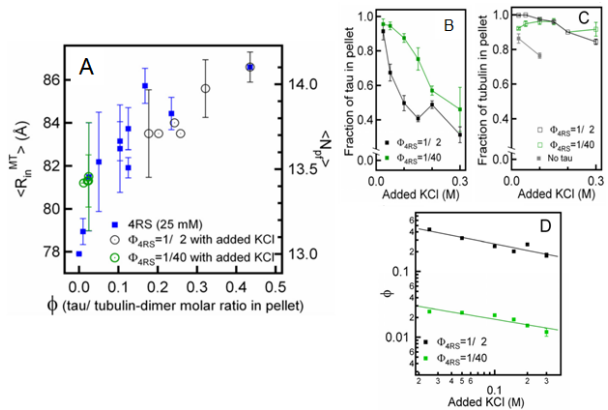


그림 5. 마이크로튜브와 타우의 상호작용에 대한 염의 효과: 4RS 타우가 결합된 마이크로튜브에 KCl을 300 mM까지 넣어준 결과, 타우가 마이크로튜브에서 떨어져 나가고 마이크로튜브의 반지름이 감소하는 것을 확인할 수 있다.

으로 감소한다. 이는 KCl이 첨가될 때 전기적 차폐(electrostatic screening)로 인해 타우가 마이크로튜블에서 떨어져 나가게 되고 타우의 영향력이 줄어들면서 튜블린의 곡률이 증가하여 마이크로튜블의 반지름이 줄어드는 것으로 보인다. 이는 타우와 마이크로튜블의 상호작용에 정전기력이 얼마나 주요하게 작용하는지를 보여주는 좋은 예시라고 할 수 있다.²⁶

2.2 마이크로튜블의 분해와 번들 형성에 반대 이온이 미치는 영향

뉴런 세포의 액손에서도 볼 수 있듯이 마이크로튜블은 특정 조건에서 서로 가까이 붙어 다발을 형성한다. 이러한 구조를 마이크로튜블 번들(bundle)이라고 부르며 타우 단백질과 이온이 번들 형성에 영향을 미친다는 연구 결과들이 보고되어 있다. 최근 UCSB의 Safinya 그룹에서 실시한 SAXS 실험 결과에 따르면, 타우/튜블린(개수 비율) = 1/2일 때는 마이크로튜블이 번들 구조로 모이지 않는 반면, 타우/튜블린 비율이 2정도로 증가한 경우에는 번들을 형성한다.²⁶ 이는 투과형 전자현미경(transmission electron micrography, TEM)을 통한 결과와도 일치한다. 한편, 일본의 Hirokawa 그룹은 액손에서 타우가 마이크로튜블 사이를 연결하는 다리 역할을 하여 번들 구조를 만든다는 것을 전자현미경으로 확인했다.²⁷⁻²⁸ 이번 장에서는 그 중에서도 타우의 전기적 상호작용을 이해하기 위해 반대 이온(counterion)의 효과를 연구한 결과들을 소개하고자 한다.

Oosawa가 제시한 'like-charge attraction 모델'에 따르면 살짝 음전하를 띠는 마이크로튜블들 끼리의 전기적 원거리 척력을 반대 이온이 완화시켜 번들 형성이 이루어진다. 반대 이온의 원자가(valence)에 따라 완화 효과가 달라진다고 모델은 설명하고 있는데(그림 6), 이는 'Manning 응축(Manning condensation)'에서 반대 이온이 마이크로튜블 표면에 응축(condensation) 될 때 반대 이온의 원자가가 클수록 마이크로튜블의 단위길이 당 유효전하(effective charge)를 감소시키는 효과가 크기 때문이다.²⁹

위에서 언급한 반대 이온의 응축 효과만 고려한다면 기본적으로 마이크로튜블의 번들이 형성될 것이라고 예상할 수

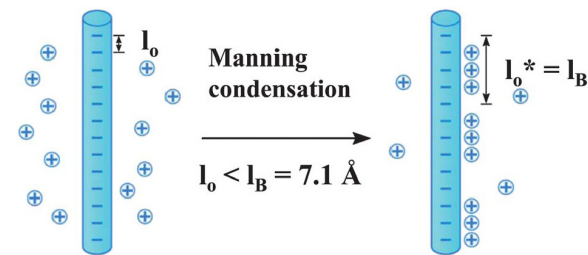


그림 6. Manning 응축: 전하를 띤 막대에 1가 반대 이온이 응축된 모습을 보여준다.

있지만, 반대 이온이 마이크로튜블의 구조에 미치는 영향은 생각보다 복잡하다. 극단적으로, 반대 이온의 종류에 따라 마이크로튜블이 서로 결합하는 것이 아니라 오히려 분해 과정을 유도하는 경우도 있기 때문이다. 이는 반대 이온이 β-튜블린에 결합되어 마이크로튜블을 구조적으로 안정화시키는 택솔(taxol)이라는 물질에 영향을 미치기 때문이다. 이러한 안정화는 택솔이 대상 튜블린의 M-loop와 근처 튜블린의 H1-S2-loop의 이온 결합을 유도함으로써 프로토피라멘트 사이의 상호작용을 증가시킴과 동시에 프로토피라멘트 내부의 튜블린 간 연결부위를 유연하게 만드는 효과에서 나오는 것으로 보고되고 있는데,³⁰⁻³³ 여기에서 다원자가 반대 이온(multivalent counterion)은 엔트로피 효과에 의해 Na⁺ 대신 튜블린 사이에 결합하여 택솔의 유연성 효과를 감소시킴으로써 프로토피라멘트를 휘게 만들고, 이는 결국 마이크로튜블의 분해로 이어지게 되는 것이다.

위의 과정들이 복합적으로 작용하여 반대 이온이 가지는 원자가, 원자 번호, 이온의 농도 등에 따라 마이크로튜블의 구조에 미치는 영향이 달라지는 것으로 알려져 있는데, 이는 SAXS를 이용하여 연구되었다. 반대 이온 중 원자가가 2인 경우, 이온이 가지는 유효 이온 반지름(effective ionic radius)에 따라 마이크로튜블의 구조에 미치는 영향이 극과 극으로 나뉘게 된다. 유효 이온 반지름이 0.072 nm에서 0.083 nm 사이에 속하는 Zn²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺의 경우에는 분해를 주로 일으키며, 0.1 nm에서 0.135 nm 사이의 반지름을 가지는 Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺는 번들 형성을 유도할 수 있다. 이는 SAXS 실험 결과에서 분석할 수 있는데, 번들이 형성된 경우에는 마이크로튜블 번들의 구조 인자가 나타나는 반면(그림 7) 분해가 일어나면 마이크로튜블의 형성 인자가 사라지고 소각(small angle)에서의 산란 세기(scattering intensity)가 증가하기 때문이다. 흥미로운 사실은 2가 반대 이온의 종류에 상관없이 분해가 일어나는 임계 분해 농도(critical depolymerization concentration)가 존재하며, 유효 이온 반지름이 작은 2가 이온의 경우, 원자 번호가 증가할수록 이 임계 농도 값이 작아진

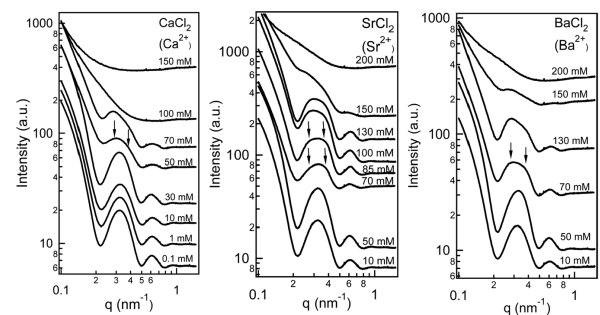


그림 7. SAXS를 통한 Ca²⁺, Ba²⁺, Sr²⁺ 농도에 따른 마이크로튜블의 임계 번들 형성 농도 관찰. 임계 농도보다 작은 농도에서는 마이크로튜블의 형성 인자가 관찰되고, 높은 경우에는 번들의 구조 인자가 나타난다.

다는 것이다(그림 8).

위의 결과는 몇 가지 분자적 관점에서 생각할 수 있다. 먼저, 크기가 작은 이온일수록 전기장의 세기가 크기 때문에, 주위의 물 분자들을 강하게 잡고 있으려는 경향이 있어서 수화(hydration)층을 잘 유지시키는 반면, 큰 이온은 쉽게 물 분자들을 놓아버리고 옆의 다른 마이크로튜브들과 결합하려 하기 때문에 번들을 형성하게끔 만드는 성향이 있기 때문이다.³⁴ 또, 번들 형성에 도움이 되지 못하는 작은 이온들은 오히려 튜블린의 M-loop와 H1-S2-loop의 상호작용과 튜블린 간의 연결 부위를 유연하게 만드는 택솔의 역할을 방해함으로써 마이크로튜브들의 분해를 유도할 수 있다. 이렇게 여러 특성(분자적 메카니즘)들이 복합적으로 작용하여 같은 2가 반대 이온이라도 원자 번호와 농도에 따라 마이크로튜브 구조에 주는 영향이 달라지게 되는 것이다.

한편, 반대 이온이 유도하는 마이크로튜브들의 번들에도 여러 종류가 존재한다. 3가(trivalent) 반대 이온인 spermidine, 4

가(tetravalent)인 spermine, 그리고 5가(pentavalent)인 oligolysine의 경우 3차원 육각형(hexagonal) 번들을 형성한다. 반면, 2가 반대 이온은 전혀 새로운 2차원 마이크로튜브 번들을 형성하는데, 직선 형태(그림 9A), 갈라진 형태(그림 9B), 혹은 고리 형태(그림 9C)의 번들이 플라스틱-임베딩(plastic embedding) 기술을 이용한 TEM으로 관찰되었다.

그림 9는 각 다원자가 반대 이온에 대하여 임계 번들 형성 농도(critical bundling concentration) 이상에서 SAXS 결과를 보여준다. 이온을 첨가하지 않았을 때 마이크로튜브들의 SAXS 산란 곡선은 바깥지름이 25.4 nm이고 두께가 4.9 nm인 속이 비어있는 원통 구조의 형성 인자의 제곱 $|F|^2$ 으로 잘 설명된다. 3가, 4가, 5가 반대 이온이 마이크로튜브들과 결합했을 때는 육각형 격자 구조에 해당하는 피크(peak)가 나타나는 것을 확인할 수 있다. 2가 반대 이온인 경우, 산란 곡선에서 피크의 폭이 넓어지는데 이는 마이크로튜브 불이성체가 형성되었음을 의미하고, 정확히 TEM에서 확인되는 느슨

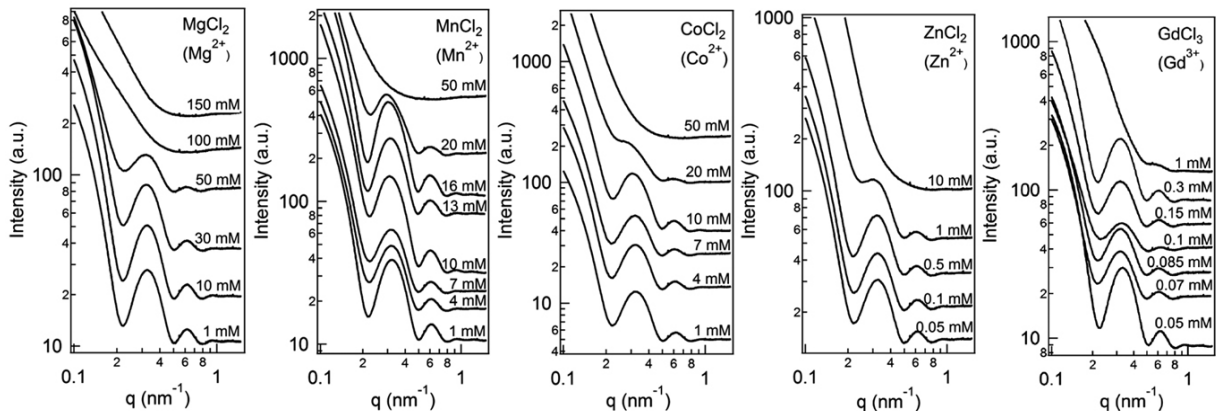


그림 8. SAXS를 통한 마이크로튜브들의 분해에 대한 2가 반대 이온 종류 및 농도 효과 실험결과: 왼쪽부터 차례로 MgCl₂, MnCl₂, CoCl₂, ZnCl₂. 맨 오른쪽에는 비교를 위해 GdCl₃에 대한 실험결과. 이온의 농도가 높아질수록 마이크로튜브들의 형성 인자가 사라짐을 확인할 수 있다. 임계 분해 농도는 원자 번호가 증가할수록 감소한다.

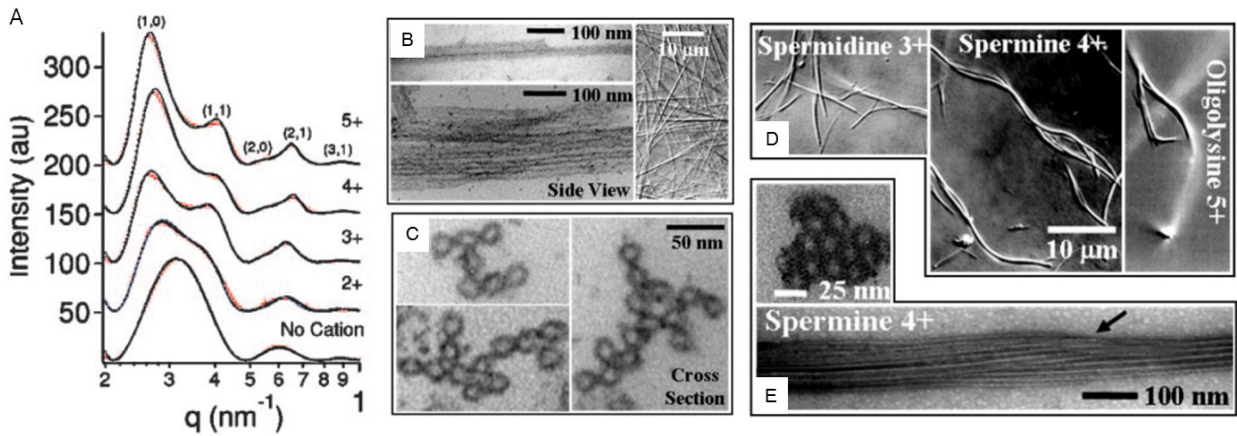


그림 9. 다원자가 반대 이온(Ba²⁺, Spermidine³⁺, Spermine⁴⁺, Oligolysine⁵⁺)에 의한 마이크로튜브들의 번들 형성. (A) SAXS 결과. (B-E) TEM과 DIC 광학현미경 이미지. Ba²⁺에 의한 마이크로튜브들의 2차원 번들의 단면 구조(C)와 Spermine⁴⁺에 의한 육각형 격자 단면 구조(E)를 플라스틱-임베딩 TEM을 이용하여 관찰.

하게 정렬된 2차원 번들과 일치한다.³⁵

3. 결론

타우 단백질과 반대 이온이 마이크로튜블에 미치는 영향은 극명하다. 싱크로트론 소각 X-선 산란(SAXS) 실험을 통해 나노스케일 구조를 정량적으로 풀어본 결과 타우 단백질이 마이크로튜블의 반지름과 프로토펴라멘트의 개수를 변화시키며 반대 이온은 원자가와 원자번호, 그리고 농도에 따라 마이크로튜블 번들을 형성하거나 분해를 유발한다. 또한 SAXS를 통해 얻은 역격자 공간에서의 결과는 투과형 전자현미경(TEM) 실험의 실공간 정보와 상호 보완되며 일관성 있는 결론을 보여준다.

마이크로튜블과 같은 생체 조립 구조 연구는 다양한 측면에서 더욱 활발히 진행될 필요성이 있는데 최근 영국 Cambridge의 Amos 그룹, 미국 UCSB의 Feinstein 그룹, University of Massachusetts Amherst의 Jennifer Ross 그룹 등에서 타우 단백질이 한 가지 이상의 결합 부위를 가지며 그로 인해 마이크로튜블이 갖는 물리적, 기능적 특성들도 매우 달라진다는 연구 결과를 보여주고 있다.³⁶⁻³⁸ 새롭게 발견된 결합 부위는 마이크로튜블의 안쪽에 위치한 것으로 추정되며 마이크로튜블이 중합되기 전에 물질을 첨가해준다는 점에서 기존의 연구들과 다른 관점을 제시하고 있다. 이와 같이 다양한 조건에서 추후에 진행될 생체 자기 조립 물질 연구에 있어서 구조적 특징을 정확히 살펴 볼 수 있는 SAXS가 큰 기여를 할 것으로 보인다.

참고문헌

1. D. Chretien, F. Metoz, F. Verde, E. Karsenti, and R. H. Wade, *J. Cell Biol.*, **117**, 1031 (1992).
2. J. M. Andreu, J. Bordas, J. F. Diaz, J. Garcia de Ancos, R. Gil, F. J. Medrano, E. Nogales, E. Pantos, and E. Towns-Andrews, *J. Mol. Biol.*, **226**, 169 (1992).
3. J. M. Andreu, J. F. Diaz, R. Gil, J. M. de Preda, M. G. de Lacoba, V. Peyrot, C. Briand, E. Towns-Andrews, and J. Bordas, *J. Biol. Chem.*, **269**, 31785 (1994).
4. G. B. Pierson, P. R. Burton, and R. H. Himes, *J. Cell Biol.*, **76**, 223 (1978).
5. A. Desai and T. J. Mitchon, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **13**, 83 (1997).
6. E. M. Mandelkow, E. Mandelkow, and R. A. Milligan, *J. Cell Biol.*, **114**, 977 (1991).
7. O. Schweers, E. Schonbrunn-Hanebeck, A. Marx, and E. Mandelkow, *J. Biol. Chem.*, **269**, 24290 (1994).
8. S. Jeganathan, M. von Bergen, E-M. Mandelkow, and E. Mandelkow, *Biochem.*, **47**, 10526 (2008).
9. A. Himmler, D. Drechsel, M. W. Kirschner, and D. W. Martin Jr, *Mol. Cell Biol.*, **9**, 1381 (1989).
10. G. Lee, N. Cowan, and M. W. Kirschner, *Science*, **239**, 285 (1988).
11. K. A. Butner and M. W. Kirschner, *J. Cell Biol.*, **115**, 717 (1991).
12. G. R. Lee, L. Neve, and K. S. Kosik, *Neuron*, **2**, 1615 (1989).
13. B. L. Goode, and S. C. Feinstein, *J. Cell Biol.*, **124**, 769 (1994).
14. K. S. Kosik, L. D. Orecchio, S. Bakalis, and R. L. Neve, *Neuron*, **2**, 1389 (1989).
15. L. Amos and D. Schlieper, *Adv. Protein Chem.*, **71**, 257 (2005).
16. D. G. Drubin, and M. W. Kirschner, *J. Cell Biol.*, **103**, 2739 (1986).
17. D. G. Drubin, S. C. Feinstein, E. M. Shooter, and M. W. Kirschner, *J. Cell Biol.*, **101**, 1799 (1985).
18. B. Esmaeli-Azad, J. H. McCarty, and S. C. Feinstein, *J. Cell Sci.*, **107**, 869 (1994).
19. G. B. Witman, D. W. Cleveland, M. D. Weingarten, and M. W. Kirschner, *PNAS*, **73**, 4070 (1976).
20. M. D. Weingarten, A. H. Lockwood, S. Y. Hwo, and M. W. Kirschner, *PNAS*, **72**, 1858 (1975).
21. K. S. Kosik, C. L. Joachim, and D. J. Selkoe, *PNAS*, **83**, 4044 (1986).
22. D. Selkoe, *Neuron*, **6**, 487 (1991).
23. M. Hutton, et al., *Nature*, **393**, 702 (1998).
24. L. N. Clark, et al., *PNAS*, **95**, 13103 (1998).
25. M. G. Spillantini, J. R. Murrell, M. Goedert, M. R. Farlow, A. Klug, and B. Ghetti, *PNAS*, **95**, 7737 (1998).
26. M. C. Choi, U. Raviv, H. P. Miller, M. Gaylord, E. Kiris, D. Ventimiglia, L. Wilson, M. W. Kim, S. C. Feinstein, and C. R. Safinya, *Biophys. J.*, **97**, 519 (2009).
27. N. Hirokawa, *J. Cell Biol.*, **94**, 129 (1982).
28. N. Hirokawa, S.I. Hisanaga, and Y. Shiomura, *J. Neurosci.*, **8**, 2769 (1988).
29. W. M. Gelbart, R. F. Bruinsma, P. A. Pincus, and V. A. Parsegian, *Phys. Today*, **9**, 38 (2000).
30. W. B. Derry, L. Wilson, and M. A. Jordan, *Biochemistry*, **34**, 2203 (1995).
31. E. Nogales, M. Whittaker, R. A. Milligan, and K. H. Downing, *Cell*, **96**, 79 (1999).
32. E. Nogales, H. W. Wang, and H. Niederstrasser, *Curr. Opin. Struct. Bio.*, **13**, 256 (2003).
33. A. Mitra and D. Sept, *Biophys. J.*, **95**, 3252 (2008).
34. J. N. Israelachvili, *Intermolecular & surface Forces*, Academic Press, London, 1992.
35. D. J. Needleman, M. A. Ojeda-Lopez, U. Raviv, H. P. Miller, L. Wilson, and C. R. Safinya, *PNAS*, **101**, 16099 (2004).
36. S. Kar, J. Fan, M. J. Smith, M. Goedert, and L. A. Amos, *EMBO J.*, **22**, 70 (2003).
37. V. Makrides, M. R. Massie, S. C. Feinstein, and J. Lew, *PNAS*, **101**, 6746 (2004).
38. T. L. Hawkins, D. Sept, B. Mogessie, A. Straube, and J. L. Ross, *Biophys. J.*, **104**, 1517 (2013).