ISSN 0252-9777(Print)
ISSN 2287-8432(Online)
한작지(Korean J. Crop Sci.), 58(1): 50~56(2013)
DOI : http://dx.doi.org/10.7740/kjcs.2013.58.1.050

수수종자의 펩타이드 분석을 위한 SELDI-TOF MS 최적화 연구

박세준* · 박준영** · 이용호* · 황수민** · 김아람** · 고지연*** · 김태완*,**†

*경기도 안성시 석정동 국립한경대학교 식물생태화학연구소
**경기도 안성시 석정동 국립한경대학교 식물생명환경과학과
***농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부

Optimization of SELDI-TOF MS for Peptide Profiling of Sorghum Seed

Sei Joon Park*, June Young Park**, Yong Ho Lee*, Su Min Hwang**, A Ram Kim**, Jee-Yeon Ko***, and Tae Wan Kim*,**†

*Institute of Ecological Phytochemistry, Hankyong National University, Ansung 456-749, Korea
**Department of Plant Life and Environmental Science, Hankyong National University, Ansung 456-749, Korea
***Department of Functional Crop, NICS, RDA, Milyang, 627-803, Korea

ABSTRACT For accurate analysis of low molecular peptides using SELDI-TOF MS (surface enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry), the optimized analytical conditions should be established for a specific biological sample. This study was conducted to optimize SELDI-TOF MS analytical conditions for profiling low molecular peptide below 10 kDa presented in sorghum seeds. Analytical conditions were as follows; (1) protein chips: CM10 (weak cation exchanger) and Q10 (strong anion exchanger), (2) dilution factors of binding buffer: 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, and 1/200, (3) the stringency of Q10 binding buffer: 10 mM and 100 mM, and (4) protein extraction buffers: sodium borate, sodium borate + acetone, phenol, and TCA buffers. Optimum dilution factors were selected as 1/20 and 1/50 in both protein chips, CM10 and Q10. Low stringency of Q10 binding buffer (10mM) detected more peptide peaks than high stringency (100 mM). Selected protein extraction buffers of sorghum seed for SELDI-TOF MS analysis was the sodium borate buffer in the range of 2~10 kDa, while the phenol buffer was more suitable in the range of 10~20 kDa.

Keywords : sorghum, peptide, SELDI-TOF MS, optimization

펩타이드로 일컬어 지는 10 kDa이하의 소분자 단백질의 역할이 펩타이드 호르몬(peptide hormones)과 바이오 활성 펩타이드(bioactive peptide) 등에 생물계에서 중요한 기능을 하는 것으로 보고되고 있으며, 펩타이드 분석법의 개발과 더불어 '펩티돔(peptidome)'의 학문 영역이 빠르게 확장되고 있다(Farrokhi *et al.*, 2008; Hartmann and Meisel, 2007). 일반적으로 펩타이드의 질량분석은 펩타이드의 추출 및 분리 후에 질량분석기를 활용하여 결정되며, 기 구축되어 있는 펩타이드 및 단백질 정보를 활용하여 동정이 이루어진다(Hu *et al.*, 2009).

SELDI-TOF MS(surface enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry)은 MALDI-TOF MS 기술의 기반에 변형된 단백질 칩을 이용하는 질량분석기술이다. 단백질 칩 표면의 크로마토그래픽의 화학적 물질분리 기능을 부여함으로써, 특별한 물질 분리과정 없이 추출된 조시료(crude sample)의 화학적 특성에 따라 칩 표면에서 직접 분리하고 바로 질량분석을 하기 때문에 단시간에 대량의 시료를 분석하는 high-throughput 프로테옴 방법으로 적용되고 있다. 하지만 질량분석의 범위가 30 kDa이하의 저분자 단백질에 제한이 되며, 질량분석의 정확도가 다소 떨어지는 단점을 안고 있다(Issaq *et al.*, 2002; Ndao *et al.*, 2010).

SELDI-TOF MS 기술의 적용은 현재에 이르기 까지 각종 암을 포함한 다양한 질병의 조기 진단을 위한 혈청 및 혈장 단백질의 펩타이드 프로파일링 및 바이오 마커 개발이 주를 이루고 있다(Ndao *et al.*, 2010; Petricoin and Liotta, 2004). 이외 분야에서 SELDI-TOF MS 적용은 동물 및 식물로 점진적으로 증가되다(Akashi and Yamori, 2007; Badri *et al.*, 2009; Ebert *et al.*, 2008; Emami *et al.*, 2010;

†Corresponding author: (Phone) +82-31-670-5081 (E-mail) taewkim@hknu.ac.kr
<Received 15 October, 2012; Revised 20 November, 2012; Accepted 21 January, 2013>

Gomiero *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2009; Povero *et al.*, 2010). SELDI-TOF MS 기술의 적용에 있어서 분석 시료에 따른 분석 조건의 최적화는 필수적이라 할 수 있다(Zhong *et al.*, 2010). 인간 혈정, 혈장 및 뇨 펩타이드 분석을 위한 최적화 조건은 Bio-Rad사의 가이드 북에 제시되고 있지만 (Baggerly *et al.*, 2004; Dijkstra *et al.*, 2007; Rollin *et al.*, 2007), 이외의 시료에 대한 최적화 조건의 보고는 미비한 실정이다. 특정 시료의 펩타이드 분석을 위해서는 특정 시료에 대한 최적화 조건을 확립하는 것이 선행되어야 한다 (Panicker *et al.*, 2009; Zhong *et al.*, 2010).

본 연구는 수수 종자 단백질의 펩타이드 분석에 SELDI-TOF MS 기술을 적용함에 있어서 SELDI-TOF MS의 정확한 분석을 위한 최적화된 단백질 추출방법 및 시료 바인딩 버퍼의 희석배수를 구명하기 실시하였다.

재료 및 방법

시료 및 실험재료

본 실험에 사용한 수수 종자는 2008년에 농촌진흥청에서 수확한 황금찰수수로 0.5 mm로 균일하게 마쇄하여 4℃에서 저장하였다. 단백질 함량 측정에는 UV-Spectrophotomater (MECASYS)를 사용하였고, 저분자 단백질 및 펩타이드 분석에는 SELDI-TOF MS (BIO-RAD)을 사용하였다.

단백질 추출 및 최적화 조건 설정

시료 바인딩 버퍼의 희석배수

총 단백질 추출액을 시료 바인딩 버퍼로 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100 그리고 1/200로 희석하였다. 시료의 바인딩 버퍼는 CM10(weak cation exchanger)은 0.1 M sodium acetate, pH 4.0(CM low-stringency buffer)와 Q10(strong anion exchanger)은 10 mM Tris-HCl, pH 9.0(Q10 low-stringency buffer)를 사용하였다.

시료 바인딩 버퍼의 강도

시료 바인딩 버퍼의 강도는 Q10 단백질 칩을 이용하여 10 mM Tris-HCl, pH 9.0(low-stringency buffer)와 100 mM Tris-HCl, pH 9.0(high-stringency buffer)으로 2수준을 두었다.

단백질 추출버퍼의 최적화

총 단백질 추출을 위한 버퍼는 4가지의 다른 방법으로 (1) 12.5 mM Sodium Borate, pH 10.0(2% β-ME, 1% Triton X-100) (Hamaker *et al.*, 1995), (2) 12.5 mM Sodium Borate, pH 10.0(2% β-ME, 1% Triton X-100) 처리 후 acetone 침전, (3) TCA(Trichloroacetic acid) 처리후 acetone 침전, (4) phenol 버퍼(0.7 M sucrose, 0.1M KCl, 0.5 M Tris-HCl pH 7.5, 50 mM EDTA, 2% 2-ME, 1 mM PMSF) 처리 후 0.1 M ammonium acetate 침전방법을 적용하였다 (Isaacson *et al.*, 2006).

단백질 추출 및 정량 측정

총 단백질 추출은 마쇄한 잡곡 종자 0.1 g을 4가지의 다른 추출용액 1 ml에서 추출 후, 총 단백질 함량은 Bradford 분석법을 적용하였다(Bradford, 1976).

SELDI-TOF MS 분석방법

수수 종자 단백질 추출 시료와 시료 바인딩 버퍼를 희석배수에 따라 희석한 후 4℃에 보관한다. 단백질 칩의 최적화를 위하여 시료 바인딩 버퍼를 200 ul를 취하여 well에 첨가하여 실온에서 250 rpm으로 5분 교반 후 바인딩 버퍼를 제거하였다. 위와 같은 방법으로 1회 반복을 하였다. 바인딩 버퍼가 제거된 단백질 칩에 희석된 단백질 시료를 150 ul 취하여 well에 첨가하여 실온에서 30분간 250 rpm으로 교반하였다. 단백질 칩에 결합이 안 된 단백질의 세정은 바인딩 버퍼 200 ul를 취하여 well에 첨가하여 실온에서 5분간 250 rpm으로 흔들어 실시하였다. 이와 같은 방법을 2회 반복하였다. HPLC용 증류수로 2회 세정 과정을 반복하여 남아있던 바인딩 버퍼를 제거하였다. 단백질 칩을 완전히 건조시킨 후 EAM를 1 ul씩 첨가하여 결정체를 형성하도록 하였다. EAM 첨가를 1회 더 반복하였다. EAM은 1~15 kD를 분석에 용이한 CHCA를 50% CHCA EAM solution (50% ACN, 0.25% TFA)으로 용해하여 실온에서 10,000 rpm으로 10분간 원심분리 하여 상등액을 사용하였다. SELDI-TOF MS 분석의 반복은 단백질 추출 4반복을 두어 실시하였다.

All-in-One peptide standard를 이용하여 질량을 보정하였으며, TOF 스펙트럼은 focus mass 5,000 Da, Matrix attenuation 1,000 Da, sample rate 800 MHz으로 low mass protein protocol을 이용하여 생성하였다. 레이저 에너지의 설정은 EAM-CHCA로 최적화하여 조사하였다. Peak의 검출과 군집분석은 ProteinChip Data manager를 이용하였다. 분자량 1,000 Da이하의 peak는 EAM의 peak로서 분석에서 제거하였다. 스펙트럼는 1,000 Da에서 25,000 Da로 표준화하였다. Peak 검출에서 first-pass peak 검출은 S/N의 비율을 5, valley depth는 3으로 설정하였고, Second-pass peak의 검출은 S/N의 비율을 2, valley depth는 2의 신호로 설정하였다. Estimated peak는 At cluster center로 설정하였다.

검출된 단백질 피크 분석은 Bio Rad에서 제공하는 Protein

Chip Data Manager Software을 이용하여 분석하였다. 단별량 분석으로 Kruskal-Wallis test로 이용하여 p 값 0.01이하에서 유의성을 판정하였다.

결과 및 고찰

시료 바인딩 버퍼의 희석배수

시료 바인딩 버퍼의 희석배수에 따라 단백질 칩에 로딩되는 시료의 단백질 농도는 달라진다. 바이오 레드의 SELDI-TOF MS 기술에서 제시하는 혈청, 혈장 및 뇨 시료의 적정 단백질 농도는 50~2,000 mg/ml 이다. 본 연구에서는 추출된 수수종자 단백질의 농도를 바인딩 버퍼의 희석농도에 따라 1,927 mg/ml 에서 19 mg/ml 로 7수준으로 나누어 분석하였다(Table 1, 2).

표면이 양이온을 띤 단백질을 결합하는 프로테인 칩 CM10 (weak cation exchanger)에 적용되는 바인딩 버퍼는 0.1 M sodium acetate, pH 4.0으로서, pH를 낮춤으로써 단백질 표면을 최대로 양이온화 하여 많은 수의 양이온 단백질을 CM10 칩 표면에 결합시킬 수 있다. 따라서 바인딩 버퍼의 pH의 변화는 단백질 칩의 결합력에 영향을 미친다. 본 연구에서 이용된 단백질 추출버퍼는 sodium borate 버퍼로서 pH 10.0에 해당한다. 따라서 pH 4.0의 바인딩 버퍼 희석하였을 때, 단백질 칩에 로딩되는 단백질의 농도는 당연히 희석되지만, 바인딩 버퍼의 pH 변화에도 상당한 영향을 미칠 것으로 예상되었다. Table 1에서 보는 바와 같이 추출 버퍼에 바인딩 버퍼를 1/2로 2배 희석하였을 때 pH는 9.6으로 추출버퍼의 pH에 가까운 음이온 조건을 이루었으며, 바인딩 버퍼의 희석배수를 1/10인 10배 이상 희석하였을 때 단백질 칩의 pH가 4.6 이하로 낮아짐을 보였다. 따라서 수수 종자단백질 추출에 pH 10.0의 sodium borate 버퍼를 이용할 경우, 바인딩 버퍼의 희석배수가 1/20 인 20배 이상 되어야 pH가 안정화될 것으로 나타났으며, 추출버퍼의 pH에 따라 바인딩 버퍼의 희석농도를 최적화해야 함을 지적하였다. 희석배수가 1/200인 200배 이상에서는 단백질의 농도가 20 mg/ml 이하로 낮아져 단백질 검출의 안정성이 떨어지는 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 1). 희석배수의 증가에 따라 검출되는 피크

Table 1. Peptide peak characteristics of CM10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different dilution factors of binding buffer.

Dilution factor	Sample		Number of peak			M/Z CV (%)	Peak intensity	
	pH	Conc. (ppm)	2~10 (kDa)	10~20 (kDa)	Total		Mean	Mean CV (%)
1/2	9.6	1,927.6 ± 126.3	22	6	28	0.041	86.3	26.3
1/5	5.2	771.0 ± 50.5	15	10	25	0.051	69.8	41.7
1/10	4.6	385.5 ± 25.3	22	11	33	0.040	59.5	44.1
1/20	4.3	192.8 ± 12.6	24	13	37	0.039	66.5	39.0
1/50	4.2	77.1 ± 5.1	25	9	34	0.030	81.5	39.7
1/100	4.1	38.6 ± 2.5	24	10	34	0.033	75.7	36.1
1/200	4.1	19.3 ± 1.3	24	4	28	0.027	60.9	44.2

Table 2. Peptide peak characteristics of Q10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different dilution factors of low stringency binding buffer.

Dilution factor	Sample	Number of peak			M/Z CV (%)	Peak intensity	
	Conc. (ppm)	2~10 (kDa)	10~20 (kDa)	Total		average	Mean CV (%)
1/2	1,927.6 ± 126.3	4	1	5	0.033	16.7	35.0
1/5	771.0 ± 50.5	6	1	7	0.035	19.8	55.7
1/10	385.5 ± 25.3	7	1	8	0.035	27.7	72.2
1/20	192.8 ± 12.6	9	1	10	0.037	26.3	74.0
1/50	77.1 ± 5.1	13	2	15	0.038	31.3	45.1
1/100	38.6 ± 2.5	10	1	11	0.031	30.2	28.0
1/200	19.3 ± 1.3	12	1	13	0.037	23.6	63.7

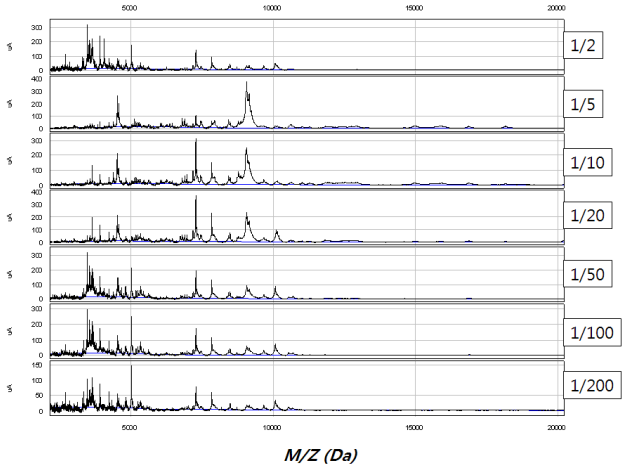

Fig. 1. Peptide peak spectra of CM10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different dilution factors of binding buffer.

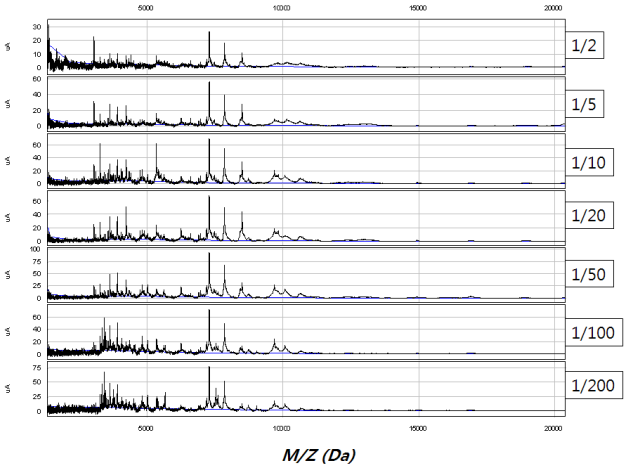

Fig. 2. Peptide peak spectra of Q10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different dilution factors of low stringency binding buffer.

스펙트럼의 변화가 확연히 나타났으며, 1/2을 제외하고 희석배수가 높아짐에 따라 검출되는 피크가 10 kDa 이하 범위에서 많아졌으며, 10 kDa 이상 범위에서 적어졌다 (Fig. 1). 2~20 kDa의 범위에서 검출된 피크의 수를 비교하면, 총 피크 수는 1/20에서 37개로 가장 많았으며, 피크의 분자량 변이계수(M/Z CV)와 피크의 세기(intensity)는 1/50에서 가장 안정적인 것으로 나타났다(Table 1). 따라서 CM10 단백질 칩에서 바인딩 버퍼의 pH, 검출된 피크 수와 피크의 안정성 및 세기를 고려할 때, 1/20과 1/50의 희석수준이 최적화 조건으로 제시되었다.

표면이 음이온을 띤 단백질을 결합하는 Q10(strong anion exchanger)에 적용되는 바인딩 버퍼는 10 mM Tris HCl, pH 9.0으로서, pH를 염기성화 함으로써 단백질 표면을 최대로 음이온화 하여 많은 수의 음이온 단백질을 Q10 칩 표면에 결합시킬 수 있다. 앞서 지적한 바와 같이 바인딩 버퍼의 pH는 단백질 칩의 결합력에 영향을 미친다 하였는데, Q10의 바인딩 버퍼의 pH 9.0는 본 연구에서 이용된 단백질 추출버퍼 sodium borate 버퍼의 pH 10.0와 비슷한 조건의 염기성 조건하에 있기 때문에 바인딩 버퍼의 희석농도에 따라 단백질 칩의 pH 영향을 없을 것으로 예상되었다 (Table 2). 바인딩 버퍼의 희석배수 변화에 따른 단백질 피크 스펙트럼의 변화는 희석배수의 증가에 따라 5 kDa이하의 저분자 단백질의 검출이 증가하였음을 보였다. 이러한 경향은 CM10의 피크 스펙트럼의 변화와 동일하였다. 표2의 검출된 피크 수의 비교에서 1/50인 50배 희석에서 가장 많은 피크가 검출되었으며, 피크의 세기가 가장 높았으며 피크의 변이계수가 비교적 안정적이었다. 따라서 Q10의 경우, 바인딩 버퍼의 희석배수는 1/50인 50배 정도가 가장 최적화임을 제시하였다.

시료 바인딩 버퍼의 강도

시료 바인딩 버퍼의 강도는 단백질 칩에 결합되는 단백질의 표면 결합력에 영향을 미친다. 즉, 바인딩 버퍼의 이온강도를 높여줌에 따라, 시료 단백질 표면의 이온과 바인딩 버퍼의 이온간 단백질 칩 표면의 결합력에 경합을 유도하여, 약한 결합을 하는 단백질은 단백질 칩의 세정과정에서 쉽게 떨어져 나간다. 따라서 바인딩 버퍼의 강도가 높아짐에 따라 단백질 표면의 이온성이 강한 것만을 결합하는 특이성을 향상시킬 수 있다. 본 연구에서 Q10을 이용하여 바인딩 버퍼의 강도를 10 mM(weak condition) 과 100 mM (strong condition) Tris HCl, pH 9.0 로 나누어 비교하였다 (Fig. 3, Table 3). 바인딩 버퍼의 강도가 강한 100 mM(strong condition) Tris HCl, pH 9.0 의 희석배수에 따른 스펙트럼의 변화는 약한 버퍼 10 mM(weak condition) Tris HCl, pH 9.0에서의 스펙트럼 변화와 비슷한 양상을 보여, 희석배수가 증가함에 따라 5 kDa이하의 저분자 단백질의 검출이 증가하였다(Fig. 3). 바인딩 버퍼의 강도에 따른 검출된 피크 수와 세기를 비교해 보면, 버퍼의 강도가 낮은 10 mM 수준에서 피크의 수와 세기가 높았음을 보였다(Table 3). 이는 앞서 예상한 결과와 일치하였으며, 많은 수의 피크를 검출하기 위해서는 강도가 낮은 버퍼를 적용해야 함을 지적하였다.

단백질 추출버퍼의 최적화

단백질 추출버퍼는 단백질의 정량적 또는 정성적 분석에

서 가장 먼저 최적화되어야 하는 요인이다. 최근 식물체 조직의 단백질 분석에 적용되는 2차 전기영동 분석에 적합한 단백질 추출버퍼로 페놀을 기본으로 한 버퍼(phenol) 와 TCA을 기본으로 한 버퍼(TCA)가 제시되었다(Isaacson *et al.*, 2006). 반면, 수수의 종자 단백질 추출에는 sodium borate 버퍼 (sodium borate)를 가장 많이 적용하는 것으로 보고되고 있다(Hamaker *et al.*, 1995). 따라서 본 연구에서는 위에 제시한 3가지 단백질 추출방법과 sodium borate 추출 후 acetone으로 단백질을 침전함으로써 단백질을 농축하는 방법(sodium borate + acetone)을 포함한 4가지 추출법을 적용하여 SELDI-TOF MS에 적합한 추출버퍼를 선정하였다. 단백질 추출 버퍼에 따른 피크 스펙트럼의 변화는 phenol 버퍼에서 확연한 차이를 보였으며, 10 kDa 이상의 범위에서 검출되는 피크의 세기가 향상되었다(Fig. 4). 단백질 추출 버퍼간의 검출된 피크의 수를 비교하면(Table 4), 2~25 kDa의 분자량 범위에서 검출된 총 피크수는 sodium borate와 TCA 버퍼에서 44개의 피크로 가장 많았으나, 피크의 세기에서는 sodium borate 버퍼에서 가장 높았다. phenol 버퍼의 경우, 검출된 피크 수는 가장 적었으나 10 kDa 이상에서 검출된 피크의 세기가 가장 높아, 이 범위에서

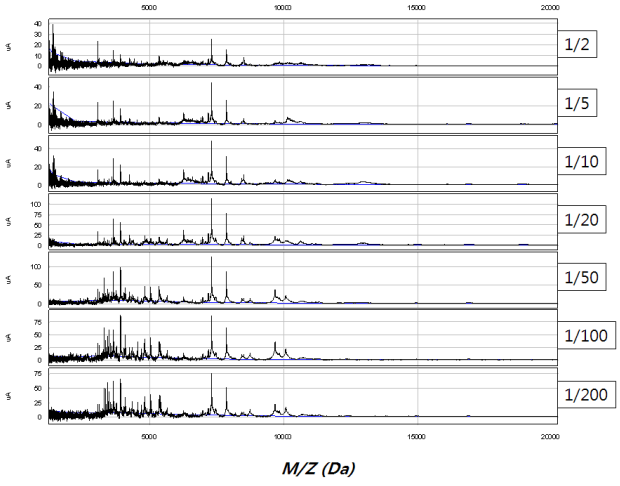

Fig. 3. Peptide peak spectra of Q10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different dilution factors of high stringency binding buffer.

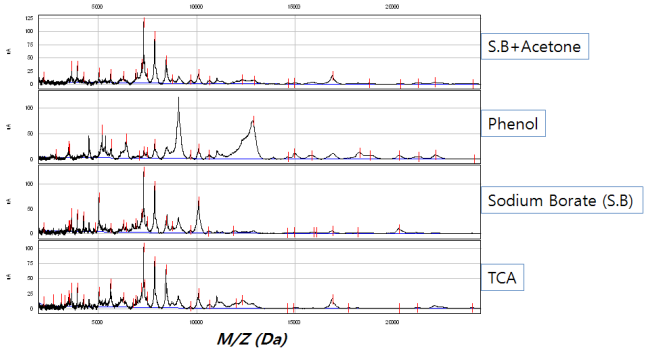

Fig. 4. Peptide peak spectra of CM10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with four different protein extraction buffers. Actone: actone precipitation after extraction with sodium borate buffer, phenol: phenol based extraction buffer, sodium borate: sodium borate buffer, TCA: TCA based extraction buffer.

Table 3. Comparisons of peptide peak characteristics of Q10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with different stringency of binding buffers.

Binding buffer stringency	Sample		Number of peak			M/Z CV (%)	Peak intensity	
	Dilution factor	Conc. (ppm)	2~10 (kDa)	10~20 (kDa)	Total		average	Mean CV (%)
10 mM	1/100	38.6 ± 2.5	10	1	11	0.031	30.2	28.0
100 mM			6	1	7	0.036	25.2	72.7

Table 4. Comparisons of peptide peak characteristics of CM10 chip array of SELDI-TOF MS in sorghum seed with four different protein extraction buffers.

Extraction buffer	Dilution factor	Sample		Number of peak			Mean peak intensity	
		pH	Conc. (ppm)	2~10 (kDa)	10~20 (kDa)	Total	2~10 (kDa)	10~20 (kDa)
Sodium borate + Acetone	1/20	4.3	100	20	17	37	29.5	5.4
Phenol				17	16	33	30.7	12.7
Sodium borate				27	17	44	31.1	7.2
TCA				28	16	44	27.8	7.0

SELDI-TOF MS를 이용한 단백질 분석에 적합한 버퍼로 제시되었다. 반면 acetone을 이용한 단백질 침전 방법(sodium borate + acetone)에서는 sodium borate 버퍼만을 적용한 것에 비해 10 kDa 이하의 저분자 단백질의 검출이 낮아짐을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 SELDI-TOF MS에 적합한 수수 종자 단백질의 추출 버퍼로는 10 kDa 이하에서는 sodium borate 버퍼가 10 kDa 이상의 범위에서는 phenol 버퍼가 최적의 단백질 추출 버퍼로 제시되었다.

적 요

SELDI-TOF MS를 활용한 저분자 펩타이드 분석을 위해서는 분석시료에 대한 최적화 분석조건을 확립하는 것이 필수적으로 선행되어야 한다. 본 연구는 수수 종자 내 존재하는 10 kDa 이하의 저분자 펩타이드를 프로파일링하기 위하여 활용된 SELDI-TOF MS의 최적화 분석조건을 확립하는데 있다. 분석조건은 (1) 프로테인 칩: CM10(weak cation exchanger), Q10(strong anion exchanger), (2) 바인딩 버퍼의 희석배수: 1/2, 1/5, 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, 1/200, (3) Q10의 바인딩 버퍼 강도: 10 mM, 100 mM, (4) 단백질 추출버퍼: sodium borate, sodium borate + acetone, phenol, TCA 버퍼로 하였다.

1. 바인딩 버퍼의 희석배수는 CM10과 Q10 모두 1/20과 1/50이 최적화로 나타났다.
2. Q10의 바인딩 버퍼 강도는 농도가 약한 10 mM에서 더 많은 피크가 검출되었다.
3. SELDI-TOF MS 분석에 적합한 수수 종자단백질 추출버퍼로는 2~10 kDa 범위에서는 sodium borate 버퍼와 10~20 kDa 범위에서는 phenol 버퍼로 분석되었다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 **차세대바이오그린21사업**(과제번호: PJ008179)의 지원에 의해 이루어진 것임

인용문헌

Akashi T. and T. Yamori. 2007. A novel method for analyzing phosphoproteins using SELDI-TOF MS in combination with a series of recombinant proteins. Proteomics 7 : 2350-2354.

Badri M. A., D. Rivard, K. Coenen, L. P. Vaillancourt, C. Goulet, and D. Michaud. 2009. A SELDI-TOF MS procedure for the detection, quantitation, and preliminary characterization of low-molecular-weight recombinant proteins expressed in transgenic plants. Proteomics 9 : 233-41.

Baggerly K. A., J. S. Morris, and K. R. Coombes. 2004. Reproducibility of SELDI-TOF protein patterns in serum: comparing datasets from different experiments. Bioinformatics 20 : 777-85.

Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72 : 248-54.

Dijkstra M., R. J. Vonk, and R. C. Jansen. 2007. SELDI-TOF mass spectra : A view on sources of variation. Journal of Chromatography B 847 : 12-23.

Ebert B., C. Melle, E. Lieckfeldt, D. Zoller, F. von Eggeling, and J. Fisahn. 2008. Protein profiling of single epidermal cell types from Arabidopsis thaliana using surface-enhanced laser desorption and ionization technology. J Plant Physiol 165 : 1227-37.

Emami K., N. J. Morris, S. J. Cockell, G. Golebiowska, Q. Y. Shu, and A. M. Gatehouse. 2010. Changes in protein expression profiles between a low phytic acid rice (Oryza sativa L. Ssp. japonica) line and its parental line : a proteomic and bioinformatic approach. J Agric Food Chem 58 : 6912-22.

Farrokhi N., J. P. Whitelegge, and J. A. Brusslan. 2008. Plant peptides and peptidomics. Plant Biotechnol J 6 : 105-34.

Gomiero A., D. M. Pampanin, A. Bjørnstad, B. K. Larsen, F. Provan, E. Lyng, and O. K. Andersen. 2006. An eco-toxicoproteomic approach (SELDI-TOF mass spectrometry) to biomarker discovery in crab exposed to pollutants under laboratory conditions. Aquatic Toxicology 78, Supplement : S34-S41.

Hamaker B. R., A. A. Mohamed, J. E. Habben, C. P. Huang, and B. A. Larkins. 1995. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. Cereal chemistry. 72 : 583-588.

Hartmann R. and H. Meisel. 2007. Food-derived peptides with biological activity : from research to food applications. Curr Opin Biotechnol 18 : 163-9.

Hu L., M. Ye, and H. Zou. 2009. Recent advances in mass spectrometry-based peptidome analysis. Expert Rev Proteomics 6 : 433-47.

Huang F., J. Clifton, X. Yang, T. Rosenquist, D. Hixson, S. Kovac, and D. Josic. 2009. SELDI-TOF as a method for biomarker discovery in the urine of aristolochic-acid-treated mice. ELECTROPHORESIS 30 : 1168-1174.

Isaacson T., C. M. Damasceno, R. S. Saravanan, Y. He, C. Catala, M. Saladie, and J. K. Rose. 2006. Sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of plant tissues. Nat Protoc 1 : 769-74.

Issaq H. J., T. D. Veenstra, T. P. Conrads, and D. Felschow.

2002. The SELDI-TOF MS approach to proteomics: protein profiling and biomarker identification. Biochem Biophys Res Commun 292 : 587-92.

Ndao M., A. Rainczuk, M. -C. Rioux, T. W. Spithill, and B. J. Ward. 2010. Is SELDI-TOF a valid tool for diagnostic biomarkers? Trends in Parasitology 26 : 561-567.

Panicker G., D. R. Lee, and E. R. Unger. 2009. Optimization of SELDI-TOF protein profiling for analysis of cervical mucous. J Proteomics 71 : 637-46.

Petricoin E. F. and L. A. Liotta. 2004. SELDI-TOF-based serum proteomic pattern diagnostics for early detection of cancer. Curr Opin Biotechnol 15 : 24-30.

Povero G., M. Papale, G. Loreto, A. Alpi, P. Perata, and E. Loreti. 2010. Identification of Grapevine Cultivar Biomarkers Using Surface-Enhanced Laser Desorption and Ionization (SELDI- TOF-MS). Am. J. Enol. Vitic. 61 : 492-497.

Rollin D., T. Whistler, and S. D. Vernon. 2007. Laboratory methods to improve SELDI peak detection and quantitation. Proteome Sci 5 : 9.

Zhong L., D. L. Taylor, and R. J. Whittington. 2010. Proteomic profiling of ovine serum by SELDI-TOF MS: optimisation, reproducibility and feasibility of biomarker discovery using routinely collected samples. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 33 : 47-63.