

Research Article

Open Access

국내 수수 종자 분석을 위한 프로테오믹스-기반 바이오마커 개발

김진영,¹ 이수지,¹ 하태정,² 박기도,³ 이병원,⁴ 김상곤,⁵ 김용철,¹ 최인수,¹ 김선태^{1*}

¹부산대학교 식물생명과학과, ²농촌진흥청 연구정책국 연구성과관리과, ³농촌진흥청 기획조정관실 녹색미래전략팀,
⁴농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부 두류유지작물과, ⁵경상대학교 식물생명공학연구소

Development of Proteomics-based Biomarkers for 4 Korean Cultivars of Sorghum Seeds (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Jin Yeong Kim,¹ Su Ji Lee,¹ Tae Joung Ha,² Ki Do Park,³ Byung Won Lee,⁴ Sang Gon Kim,⁵ Yong Chul Kim,¹
In Soo Choi¹ and Sun Tae Kim^{1*}

Received: 18 January 2013 / Revised: 1 February 2013 / Accepted: 13 February 2013

© 2013 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) ranks as the 6th most planted crop in the world behind wheat, rice, maize, soybean, and barley. The objective of this study was to identify bio-marker among sorghum cultivars using proteomics approach such as two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2-DE) coupled with mass spectrometry (MS).

METHODS AND RESULTS: Proteins were extracted from sorghum seed, and separated by 2-DE. Total 652 spots were detected from 4 different sorghum seed after staining of 2-DE with colloidal Coomassie brilliant blue (CBB). Among them, 8 spots were differentially expressed and were identified using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. They were involved in RNA metabolism (spot 1, spot 4), heat shock proteins (HSPs, spot 2), storage proteins (spot 3, spot 5, and spot 6), and redox related proteins (spot 8). Eight of these proteins were highly up-regulated in Whinchal-susu (WCS). The HSPs, Cupin family protein, and Globulin were specifically accumulated in WCS. The DEAD-box

helicase was expressed in 3 cultivars except for WCS. Ribonuclease T2 and aldo-keto reductase were only expressed in 3 cultivars except for Daepung-susu (DPS).

CONCLUSION(S): Functions of identified proteins were mainly involved in RNA metabolism, heat shock protein (HSP), and redox related protein. Thus, they may provide new insight into a better understanding of the characterization between the cultivars of sorghum.

Key Words: Protein Biomarker, Proteomics, Sorghum, 2-DE

서론

수수 (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)는 외떡잎 식물 벼목 화본과의 한해살이풀로 밀, 벼, 옥수수, 콩 및 보리와 함께 세계 주요 6대 곡류 작물로 생육 기간이 짧고, 건조하고 고온의 지역 및 척박한 토양에서도 생육이 왕성하여 우리나라 전 지역에서 재배가 가능하다 (Kim *et al.*, 2006; Cho *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2000). 아시아, 아프리카 및 중미 지역에서 주요 식량 자원으로 수수가 재배되고 있으며 또한 용도에 따라 곡용수수 (grain sorghum), 소경수수 (장목수수; broom-corn), 단수수 (sorgo) 등으로 나뉘어 재배되고 있다 (Chang and Park, 2005). 수수는 우리나라에서 재배되고 있는 유망한 바이오 에너지 식물 중 하나로 전 세계적으로

*교신저자(Corresponding author),

Phone: +82-55-353-5962; Fax: +82-55-350-5509;

E-mail: stkim71@pusan.ac.kr

416만 ha 이상에서 재배되고 있으며, 특히 단수수의 경우, 바이오 연료 자원으로 생산성이 높다고 보고되어 있으나 (Lee *et al.*, 2008), 현재 공업용 및 사료용의 목적으로 주로 이용되고 있으며, 그 연구가 부족한 실정이다 (Jogeswar *et al.*, 2007). 수수는 주요 성분들이 tannins, phenolic acid, anthocyanins, phytosterols, 그리고 policosanols 등으로 이루어져 있고, phenolic compounds의 대부분이 flavonoid로, tannins은 노화와 만성 질환 예방 등 항산화 활성에 관련이 있는 것으로 보고되었다 (Kim *et al.*, 2006; Awika *et al.*, 2003; Kil *et al.*, 2009). 따라서 수수가 웰빙식품으로 주목을 받고 있으며 앞으로 수요가 증가할 것으로 전망되는 등 미래에 국내 유전자원에서 차지하는 중요성에 비추어 볼 때 수수 유전자원에 대한 연구가 절실하며 생명공학적 기초 연구가 활발히 진행되어 수수의 육종에 유용하게 이용될 수 있는 기반이 제공되어야 할 필요성이 요구된다.

프로테오믹스는 단백질 수준에서 유전자 발현의 특성을 파악하여, 단백질 발현에 대한 정보 획득 및 그 발현 단백질의 기능 해명에 있어 유용한 기술이라고 할 수 있다 (Pandey and Mann, 2000). 이러한 프로테오믹스적 접근법은 이차원 전기영동 (2-DE) 분석으로 특정 조건에 따라 다르게 발현되는 단백질을 등전점 (pI)과 분자량에 따라 분리한 후 각각의 단백질을 질량 분석기를 이용하여 아미노산 서열을 결정하고 이를 바탕으로 단백질이나 genome database를 bioinformatics적 분석을 수행하여 단백질을 동정하는 과정이다 (Rabilloud, 2002).

현재까지 수수 단백질체에 대한 분석 연구는 미미한 실정이다. 최근 Kumar 등 (2011)은 salt stress에 반응하는 수수 단백질에 대한 프로테오믹스 분석을 수행하였다. Ndimba 등 (2010)은 salinity stress 하에 발현되는 heat shock protein 70 (HSPs70)에 대한 프로테오믹스 분석을 수행하여 보고하였다.

본 연구는 수수 품종에서 품종 별로 발현 정도에 차이와 품종 특이적으로 발현되는 단백질을 2-DE로 분리한 후, MALDI-TOF/TOF MS를 이용하여 동정함으로써 수수 종자의 품종 간 차이를 보이는 단백질을 확보하고 이들 단백질을 이용하여 수수의 기능성 강화 및 품종 판별 기술 개발을 위한 유용 유전자를 확보하고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용된 수수는 대풍수수 (DPS), 황금찰수수 (HGCS), 흰찰수수 (WCS), 토종수수 (TJS) 등 4 품종으로, 사용된 수수 종자는 농촌진흥청 국립식량과학원 기능성 작물 부에서 분양 받았다.

단백질 추출

1 g (약 5 립)의 종자에 액체 질소를 부어 완전히 과쇄한 후, 과쇄된 가루에 Mg/NP-40 단백질 추출용액 [0.5 M Tris-HCl, 2% Nonidet P (NP)-40, 20 mM MgCl₂] 20 ml을 첨가시켜 균질화 시키고 나서 12,000 rpm으로 4°C에서 10

분 간 원심분리를 수행하여 상등액만 분리하였다. 추출한 단백질을 물로 포화된 phenol 10 ml을 첨가 하여 현탁 시킨 후 원심 분리하여 phenol 층을 취하고 0.1 M ammonium acetate를 포함한 methanol을 phenol 층 부피의 4배 양으로 첨가하여 균질화 후 1 시간 동안 -20°C 에서 침전시켰다. 침전 후 4°C에서 12,000 rpm으로 5 분 간 원심 분리하여 얻은 침전물에 0.1 M ammonium acetate를 포함한 methanol 10 ml을 첨가하여 현탁 후 침전물을 얻는 방법과 같은 조건으로 다시 원심 분리하는 세척 과정을 세 번 반복하고, 80% acetone으로 두 번 더 세척하였다. 마지막으로 80% acetone 1 ml을 첨가하여 -20°C에서 추출 된 단백질을 보관하였다 (Kim *et al.*, 2001).

단백질 정량

추출된 단백질은 2-DE Quant Kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 사용하여 정량 분석하였다. 80% acetone에 침전 되어 있는 단백질을 원심 분리를 수행하여 acetone을 완전히 제거하고, rehydration 용액 [7 M Urea, 2 M Thiourea, 4% (v/v) CHAPS, 2 M dithiothreitol (DTT), 0.5% (v/v) IPG buffer pH 4-7 (GE Health, Waukesha, WI, USA)]에 녹인 후, 2 분간 원심 분리를 수행하였다. 500 µl precipitant (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 첨가하여 섞어 준 뒤, 상온에 2-3 분 간 놓아 둔 후 500 µl co-precipitant (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 첨가하여 가볍게 현탁 시킨 후 10,000 rpm 이상으로 5 분간 원심 분리하여 상등액을 완전히 제거하였다. 100 µl copper 용액 (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)과 400 µl 증류수를 첨가 후, 침전물이 완전히 용해될 때까지 혼합하였다. 각 튜브당 1 ml working color reagent (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)를 첨가한 즉시 부드럽게 섞어 주었다. 상온에서 15~20 분간 놓아 둔 후, spectrophotometer (Mecasys, Daejeon, South Korea)를 이용하여 480 nm 파장에서 단백질 농도를 측정하였다.

이차원전기영동(2-DE)분석

2-DE 분석은 Kim 등 (2012)에 쓰여진 방법으로 수행 하였다. 각각의 단백질 시료 (500 µg)는 24 cm IPG strip (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) 이용하여 등전점 전기영동을 실시하였다. Rehydration 용액에 6 시간 동안 Rehydration 시킨 strip을 이용하여 전기영동을 실시했다. 전기 영동은 50 V 4 시간, 100 V 1 시간, 500 V 1 시간, 1000 V 1 시간, 2000 V 1 시간, 4000 V 2 시간, 8000 V 5 시간, 8000 V 9 시간, 50 V 6 시간으로 수행 하였으며 IPGphor II platform (GE healthcare, Waukesha, WI, USA)에 의해 실시되었다. 전기 영동 후 strip은 equilibration 용액 [30% (v/v) glycerol, 2% (v/v) sodium dodecyl sulfate (SDS), 50 mM Tris-HCl (pH 6.8), 100 mM DTT, 6 M Urea, 0.1 mg/ml bromphenol blue]에 equilibration 과정을 거친 뒤 55 mM iodoacetamide (Amresco, Solon,

OH, USA)를 첨가 후 암실에서 30 분간 한번 더 equilibration를 수행하였다. Strip은 13% SDS-PAGE gel 위에 수평으로 올려 놓고 전기영동을 수행하였다. 전기영동은 gel 당 2 W로, 500 V, 300 mA 에서 30 분을 걸어 준 뒤, gel 당 16 W에서 700 V, 300 mA로 loading dye가 gel 아래 0.5 cm로 내려갈 때까지 걸어 주었다. Gel은 colloidal Coomassie Brilliant Blue (CBB) 염색 용액 [34% (v/v) methanol, 17% (w/v) ammonium sulfate, 3% (v/v) phosphoric acid, 0.1% (w/v) CBB G-250]으로 염색하였다.

이미지 분석

2-DE gel은 transmissive scanner (PowerLook 1120, UMAX)를 사용하여 스캔 후 Image Master 2D Platinum software 6.0 (GE Healthcare, Waukesha, WI, USA)를 이용하여 이미지를 분석하였다. 분석 과정에는 spot 판별 과정과 부피 측정이 포함되어 있다. 첫 번째로 품종마다 양적 변화를 보이는 spot을 판별 한 후 각 spot의 pixel 값을 측정하였다. 단백질 spot의 발현도는 p-value가 0.05 이하인 spot들로 선정하였다.

단백질 동정

Kim 등(2004)에서 보고된 바와 같이 2-DE gel에서 In-gel tryptic digestion을 수행한 뒤 MALDI-TOF/TOF mass spectrometer 분석을 수행하였다. Gel에서 colloidal CBB로 염색된 protein spot을 잘라내어 50% (v/v) ACN이 포함된 0.1 M NH_4HCO_3 에 세척하여 SpeedVac Concentrator (Thermoscientific, Bremen, Germany) 으로 건조 시켰다. 건조 된 gel 조각에 10 mM DTT이 포함된 0.1 M NH_4HCO_3 을 처리한 후 55°C 에서 45분간 환원시킨 후 원심 분리로 상등액을 제거하고 55 mM iodoacetamide 이 포함된 0.1 M NH_4HCO_3 을 처리하여 암실에서 30분간 알킬화 반응을 시켰다. Gel 조각을 50% ACN이 포함된 0.1 M NH_4HCO_3 로 세척 작업을 수행한 뒤 digesting solution [25 mM NH_4HCO_3 , 0.1% noctylglucoside (w/v), and 12.5 ng/ μl trypsin]을 처리하여 37°C 에서 over night 하여 digestion 시킨 후 건조 시켰다. 단백질 동정은 ABI 4800 Plus TOF-TOF Mass spectrometer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA)를 이용하여 355 nm에서 200 Hz ND;YAG laser를 가동시켰다. 모든 데이터는 4700 Proteomics analyzer를 위한 Mass Standard Kit (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. MS/MS spectra는 Database 검색은 database 검색 프로그램인 MASCOT에서 NCBI database 를 바탕으로 검색하였으며 검색 척도에 대해서 experimental peptide mass value에 대한 오차를 ± 50 ppm으로 정하고 methionine oxidation과 carboxyamidomethylation을 variable modification으로 지정하였으며 miscleavage는 1로 지정하여 검색하였다.

결과 및 고찰

2-DE 분석법에 의한 단백질 분리

수수 품종 별로 발현 정도에 차이가 나는 단백질을 비교하기 위하여 농촌진흥청 국립식량과학원 기능성 작물부로부터 분양 받은 4 품종의 수수 종자로부터 pheonol 추출법을 이용하여 단백질을 추출하였다 (Fig 1.). 추출한 단백질은 이차원 전기영동을 실시한 후 colloidal CBB 염색법을 통해 품종 별로 발현의 차이를 보이는 단백질 spot들을 관찰할 수 있었다 (Fig 2.). 총 652개의 spot들이 관찰 되었고, 이들 중 일부는 품종별로 발현량에 차이를 나타내었다. 이들 이차원 전기영동 gel을 ImageMaster software를 이용하여 품종별로 비교한 결과 8 개의 단백질이 품종별로 발현에 차이를 보였다 (Fig 3.). 대부분은 흰찰수수 (WCS)에서 발현되는 경향이 컸으며 이들 단백질의 발현 정도의 차이를 ImageMaster software를 이용하여 비교한 결과, spot 3, spot 5와 spot 6 은 흰찰수수(WCS)에서 유일하게 발현 되는 단백질임을 확인 하였다. 또한 spot 1은 흰찰수수 (WCS)를 제외한 나머지 세 품종에서 발현되었고 spot 4 와 spot 8은 대풍수수 (DPS)를 제외한 나머지 세 품종에서만 발현됨을 확인하였다. spot 2 는 토종수수 (TJS)에서 유일하게 발현되었다. Spot 7은 모든 단백질에서 발현이 되는 것을 확인하였으나 그 중 토종수수 (TJS)와 황금찰수수 (HGCS)에서 높게 발현 되는 것을 나타

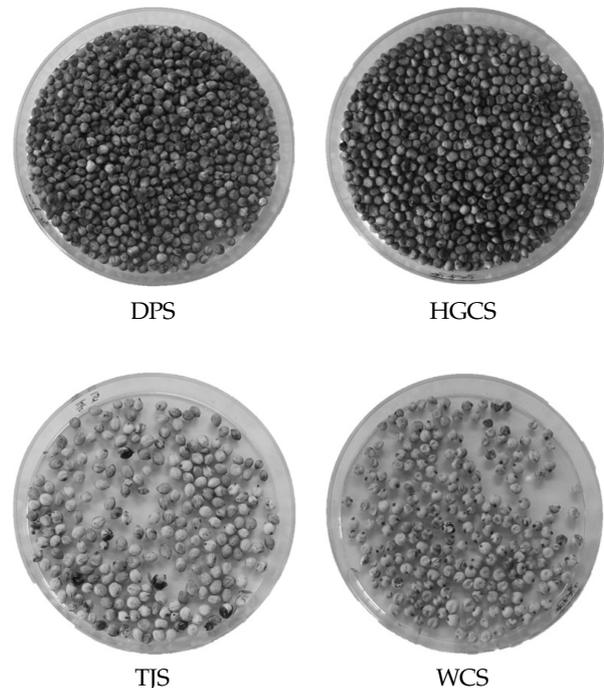


Fig. 1. Photographs of sorghum seeds used for proteomics analysis. DPS, Daepung-susu; WCS, Whinchal-susu; TJS, Tojong-susu; HGCS, Hwanggeumchal-susu.

Table 1. Proteins identified by MALDI-TOF/TOF MS.

Spot No.	Accession No.	Putative Function [Taxonomy]	QM	SC (%)	Score	Expect	MR/pI(T)	The highest-scoring peptides (Ions score)	MSMS /PMF
1	gi 242096928	DEAD-box helicases [Sorghumbicolor]	42	68	372	4.60E-32	47.2/5.3	R.ILASGVHVVVGTTPGR.V (39) K.MFVLDEADEMLSR.G (33)	10/32
2	gi 242064494	alpha-crystallin-Hsps_p23-like [Sorghumbicolor]	19	62	338	1.10E-28	22.1/5.8	K.VQVEDGNVLAISGER.K (68) R.FPLPESADLDSIR.A (68)	4/12
3	gi 242041881	Cupin family protein [Sorghumbicolor]	25	23	297	1.40E-24	75.4/6.2	K.ATEIAIVTDGSGIVQIVCPSTNPS GESR.R (26) R.DSTILSCISCAEEMEEK.A (70)	5/12
4	gi 242081561	Ribonuclease T2 (RNase T2) [Sorghumbicolor]	24	79	223	3.60E-17	25.1/5.3	R.FWGHEWEK.H (34)	6/20
5	gi 242033447	Globulin-1 S allele precursor [Sorghumbicolor]	11	17	157	1.40E-10	69.8/7.4	R.DSNLEIVCFELR.A (40) K.AEEVDEVLGAR.R (45)	5/9
6	gi 242037831	similar to Globulin-2 precursor [Sorghumbicolor]	5	8	104	2.90E-05	51.8/6.3	K.LLAFGADEEEVVDR.V (96)	1/4
7	gi 242065584	hypothetical protein [Sorghumbicolor]	19	32	202	4.60E-15	22.2/5.6	R.GGDLHVEETTLPAAGR.R (76) K.GDGGGGAIDAVAAAADMNEG R.M (47)	5/13
8	gi 1155213	Aldo-keto reductases (AKRs) [Avenafatua]	14	27	247	1.40E-19	36.0/6.3	R.AGSDTAHSVQTAITEAGYR.H (84) K.HGIHVTAYSPLGSSEK.N (106)	3/9

QM, queries matched. SC, sequence coverage. Mr/pI(T), Theoretical molecular weight/isoelectric point. PMF, Peptide Mass Fingerprint

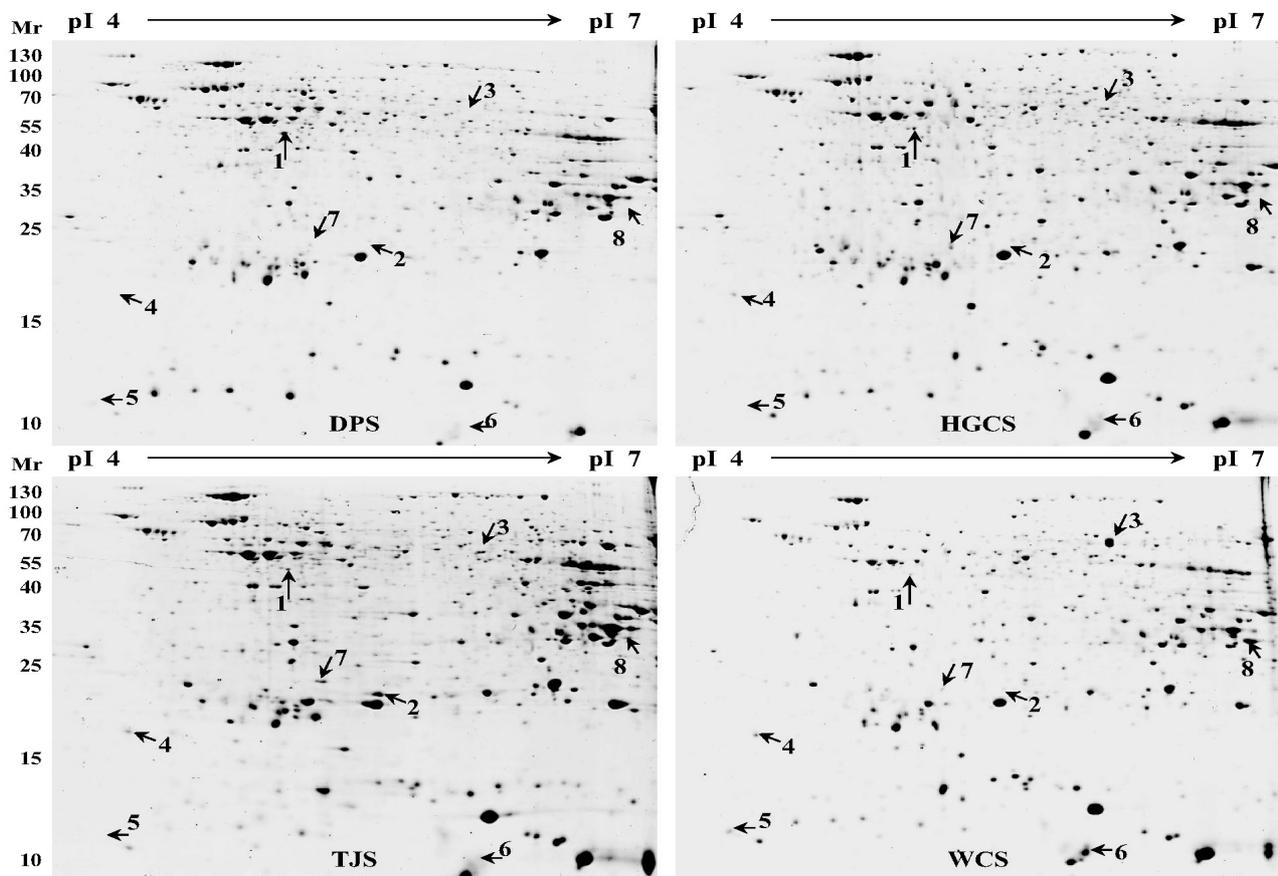


Fig. 2. 2-DE analysis of total protein extracts of seeds from 4 sorghums. DPS, Daepung-susu; WCS, Whinchal-susu; TJS, Tojong-susu; HGCS, Hwanggeumchal-susu.

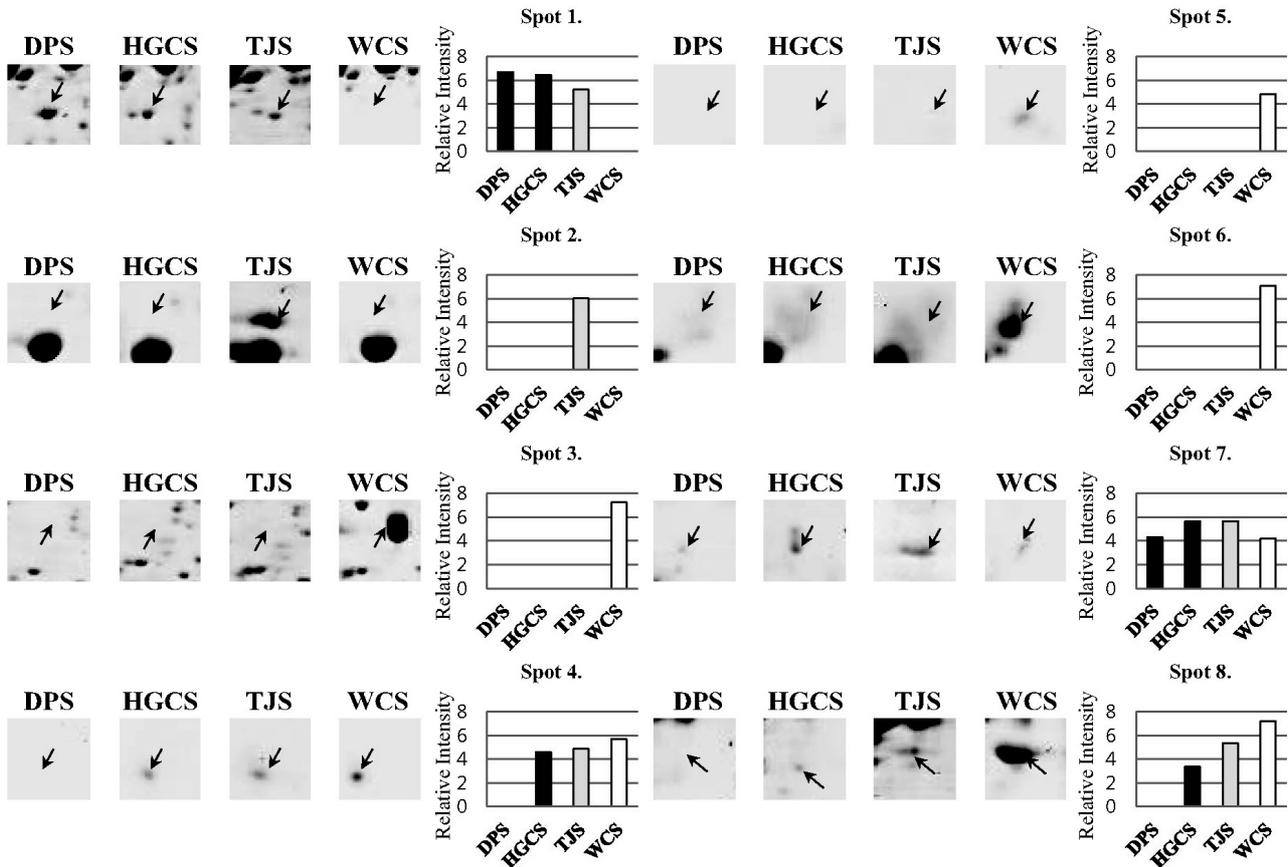


Fig. 3. Representative protein spots in 4 Sorghums. Highly magnified views and relative spot volumes of proteins showing significant differences are shown. DPS, Daepung-susu; WCS, Whinchal-susu; TJS, Tojong-susu; HGCS, Hwanggeumchal-susu

내었다. 또한 Anova 검정을 통하여 모든 spot은 품종별로 발현에 대한 차이에 있어 유의성이 있음을 확인하였다. 이와 같이 품종별로 특이적으로 발현하는 단백질 spot들을 gel에서 잘라내어 tryptic digestion 과정을 거쳐 MALDI TOF/TOF MS로 분석을 실시하고 NCBI database를 기반으로한 MASCOT 검색 engine을 이용하여 단백질을 동정하였다 (Table 1). 동정한 결과, RNA metabolism (spot 1, spot 4), HSP (spot 2), 저장 단백질 (spot 3, spot 5, spot 6), 산화환원 관련 단백질 (spot 8)들을 동정하였다.

품종별로 특이적으로 발현하는 단백질

DEAD-box helicase (spot 1)는 대풍수수 (DPS)에서 다른 세 품종에 비해 발현 정도가 가장 컸다 (Fig 3.). RNA helicase는 이중 가닥 RNA를 풀어주기 위해 nucleotide triphosphate의 가수분해로 전달 받은 에너지를 사용하는 효소와 관련이 있는 것으로 보고된 단백질로 모든 단계의 RNA Metabolism에 관련되어 있다 (de la Cruz *et al.*, 1999, Vashisht and Tuteja, 2006). DEAD-box RNA helicase는 RNA helicase의 가장 큰 subfamily를 구성하며 RNA chaperone에 매우 중요한 후보 단백질이다 (Tanner and Linder, 2001; Lorsch, 2002). 이 DEAD-box RNA

helicase의 식물 내에서의 기능은 아직 알려진 보고가 거의 없다. DEAD-box RNA helicase는 주로 저온 등의 abiotic 스트레스에 의해 유도되는 것으로 알려져 있지만 스트레스를 받은 상황에서의 역할에 대한 정보가 아직 미흡하다.

Alpha-crystallin-Hsps_p23-like protein (Spot 2)과 hypothetical protein (Spot 7)은 토종수수 (TJS)에서 발현 정도가 높은 단백질이다(Fig. 3). Alpha-crystallin-Hsps_p23-like protein은 heat shock proteins family로서 alpha-crystallin protein (ACD) 구조는 매우 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며 water stress에 반응하는 것으로 보고되어있다 (Maqbool *et al.*, 2007). HSP (spot 2)는 스트레스 하에서 단백질의 변성을 방지하거나 재생에 관여함으로써 세포를 보호하는 기능으로 알려져 있다. HSP는 스트레스 중에서도 고온 스트레스에 대해 반응한다. 이 단백질 유전자들을 분리하여 다른 내열성이 약한 수수 품종에 도입하게 되면 다른 품종들의 내열성 증대에 기여를 하게 될 것이다.

흰찰수수 (WCS)에서 Spot 3, Spot 4, Spot 5, spot 6 그리고 Spot 8이 다른 세 품종에 비해 특이적으로 높은 발현 정도를 보이고 있음을 관찰 하였다 (Fig. 3). Cupin family protein (Spot 3)과 Ribonuclease T2 (Spot 4), Globulin-1 S allele precursor (Spot 5), Aldo-keto reductases

(Spot 8)은 흰찰수수 (WCS)에서 주로 보이는 단백질이다. 특히 Cupin family protein (Spot 3)은 병에 대한 저항성에 관련이 있으며 저장단백질 기능 및 종자의 발아 및 초기 생육에 관여한다 (Dunwell et al., 2001). 또한 알레르기를 유발할 수 있다고 보고되었다 (Breiteneder and Mills, 2005). 흰찰수수 (WCS)에서만 특이적으로 보이는 단백질이므로 품종 marker로서의 활용 가능성도 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

Ribonuclease T2 (Spot 4)는 인산이 결핍될 때 이 유전자가 발현하기 때문에 nutritional stress 조건 하에 식물을 구하기 위해 phosphate scavenging system RNA를 분해하여 인산을 공급하는 체계의 한 부분일 것이라고 추측된다 (Taylor et al., 1993). Aldo-keto reductases (Spot 8)은 생체 내에 생성된 aldehyde 또는 산화된 phospholipid를 제거하여 세포의 독성을 억제하는데 관여한다 (Spite et al., 2007). Aldo-keto reductases (Spot 8)이 풍부한 흰찰수수 (WCS)는 환원된 물질이 많아 위의 기능을 좀 더 안정화시켜 주는 물질들이 많을 것으로 예상된다. 따라서 Aldo-keto reductases가 흰찰수수 (WCS)에 많다는 것은 흰찰수수 (WCS) 품종에 대한 기능성 증대에 큰 의미가 있을 것으로 사료된다.

요약

수수 종자의 품종 간 특이적으로 발현하는 단백질을 동정하여 기능성 유전자를 확보하고 이들 유전자를 이용하여 수수의 기능성 강화 및 품종 판별 기술 개발을 위한 유용 유전자를 확보하고자 프로테오믹스 기법을 이용하여 수수 종자로부터 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질을 이차원전기영동 후, colloidal CBB 염색을 통해 품종 별로 발현에 차이를 보이는 단백질을 분석하였다. 총 652 개의 spot들 중에 8개의 단백질 spot들이 발현 정도에 변화를 보였으며, 이들 단백질을 MALDI-TOF/TOF MS와 MASCOT database를 통해 동정한 결과, RNA metabolism (spot 1, spot 4) HSP (spot 2), 저장 단백질 (spot 3, spot 5, spot 6), 산화-환원 (spot 8) 관련 단백질 등이 동정되었다. 특히 동정된 단백질은 주로 흰찰수수 (WCS)에서 발현 정도가 높게 나오는 경향을 보였으며, 흰찰수수 (WCS)에서 유일하게 발현 되는 단백질로 Cupin family protein, Gloubulin 등이 동정되었다. DEAD-box helicase는 흰찰수수 (WCS)를 제외한 나머지 세 품종에서 발현되었다. Ribonuclease T2와 Aldo-Keto reductase는 대풍수수 (DPS)를 제외한 나머지 세 품종에서 발현되었다. HSPs는 토종수수 (TJS)에서만 발현 되는 것을 확인하였다. 이들 동정된 단백질들은 수수의 품종 별 특성을 이해하는데 중요한 단서를 제공할 것으로 예측된다.

감사의 글

This work was supported by two year program of Pusan National University.

참고문헌

- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L., 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products, *J. Agric. Food Chem.* 51, 6657-6662.
- Breiteneder, H., Mills, E.N., 2005. Plant food allergens—structural and functional aspects of allergenicity, *Biotechnol. Adv.* 23, 395-399.
- Chang, H.G., Park, Y.S., 2005. Effects of waxy and normal sorghum flours on sponge cake properties, *Food Engine. Prog.* 9, 199-207.
- Cho, N.K., Kang, Y.K., Song, C.K., Jeun, Y.C., Oh, J.S., Cho, Y.I., S.J., Park, 2004. Effects of planting density on growth, forage yield and chemical composition of Jeju native Sorghum (*Sorghum bicolor* L.), *J. Korean Grassl. Sci.* 24, 225-230.
- De la Cruz, J., Kressler, D., Linder, P., 1999. Unwinding RNA in *Saccharomyces cerevisiae*: DEAD-box proteins and related families, *Trends Biochem. Sci.* 24, 192-198.
- Dunwell, J.M., Culham, A., Carter, C.E., Sosa-Aguirre, C.R., Goodenough, P.W., 2001. Evolution of functional diversity in the cupin superfamily, *Trends Biochem. Sci.* 26, 740-746.
- Jogeswar, G., Ranadheer, D., Anjaiah, V., Kishor, P.B.K., 2007. High frequency somatic embryogenesis and regeneration in different genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench from immature inflorescence explants, *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant* 43, 159-166.
- Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire, B.K., Chung, I.M., Kwon, S.S., Goh, E.J., Heo, K., Kim, M.J., Lim, J.D., Lee, D., Yu, C.Y., 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract, *Food Chem.* 115, 1234-1239.
- Kim, K.O., Kim, H.S., Ryu, H.S., 2006. Effect of *Sorghum bicolor* L. Moench (sorghum, sursu) water extracts on mouse immune cell activation, *J. Korean Diet Assoc.* 12, 82-88.
- Kim, S.T., Cho, K.S., Jang, Y.S., Kang, K.Y., 2001. Two-dimensional electrophoresis analysis of rice proteins by polyethylene glycol fractionation for protein arrays, *Electrophoresis* 22, 2103-2109.
- Kim, S.T., Kim, S.G., Hwang, D.H., Kang, S.Y., Kim, H.J., Lee, B.H., Lee, J.J., Kang, K.Y., 2004. Proteomic analysis of pathogen-responsive proteins from rice leaves induced by rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*, *Proteomics* 4, 3569-3578.
- Kim, U.G., Jung, H.J., Lee, S.J., Kim, S.T., 2012. Crop

- proteomics: Practical method for high resolution of two-dimensional electrophoresis, *J. Plant Biotechnol.* 39, 81-92.
- Kumar, S.A., Alam, S.I., Sengupta, N., Sarin, R., 2011. Differential proteomic analysis of salt stress response in Sorghum bicolor leaves. *Environ. Exp. Bot.* 71, 321-328.
- Lee, K.E., Lee, J.Y., Kim, K., 2008. Effect of content of crop component on the bioethanol production, *Korean J. Crop Sci.* 53, 339-346.
- Lorsch, J.R., 2002. RNA chaperones exist and DEAD box proteins get a life, *Cell* 109, 797-800.
- Maqbool, A., Zahur, M., Irfan, M., Qaiser, U., Rashid, B., Husnain, T., Riazuddin, S., 2007. Identification, characterization and expression of drought related alpha-crystalline heat shock protein gene (GHSP) from desi cotton (*Gossypium arboreum* L.), *Crop Sci.* 47, 2437-2444.
- Ndimba, B.K., Thomas, L.A., Ngara, R., 2010. Sorghum 2-dimensional proteome profiles and analysis of Hsp70 expression under salinity stress. *Kasetsart J. (Nat Sci)* 44: 768-775.
- Pandey, A., Mann, M., 2000. Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 405, 837-846.
- Rabilloud, T., 2002. Two-dimensional gel electrophoresis on proteomics: Old, old fashioned, but it still climbs up the mountain, *Proteomics* 2, 3-10.
- Spite, M., Baba, S.P., Ahmed, Y., Barski, O.A., Nijhawan, K., Petrash, J.M., Bhatnagar, A., Srivastava, S., 2007. Substrate specificity and catalytic efficiency of aldoketo reductases with phospholipid aldehydes, *Biochem. J.* 405, 95-105.
- Tanner, N.K., Linder, P., 2001. DExD/H box RNA helicases: From generic motors to specific dissociation functions, *Mol. Cell* 8, 251-262.
- Taylor, C.B., Bariola, P.A., Delcardayre, S.B., Raines, R.T., Green, P.J., 1993. RNS2: a senescence-associated RNase of Arabidopsis that diverged from the sRNases before speciation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 5118-5122.
- Vashisht, A.A., Tuteja, N., 2006. Stress responsive DEAD-box helicases: a new pathway to engineer plant stress tolerance, *J. Photochem. Photobiol. B* 84,150-160.
- Zhao, Z., Tishu, C., Laura, T., Mike, M., Ning, W., Hong, P., Marjorie, R., Sheryl, S., Dave, H., Jon, S., Dortie, P., 2000. *Agrobacterium*-mediated sorghum transformation, *Plant Mol. Biol.* 44, 789-798.