

Yeast two hybridization을 이용한 podocin과 결합하는 새로운 단백질의 탐색 및 규명

삼성생명과학연구소 임상의학연구센터¹, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 신장내과²

박수진¹ · 이병하¹ · 김대중²

Identification of Proteins Interacting with Podocin using Yeast Two Hybridization

Park Soo Jin¹, Lee Byung Ha¹, Kim Dae joong²

Samsung Biomedical Research Institute Samsung Medical Center¹, Sungkyunkwan University School of Medicine²

목 적 : 최근 단백질 혹은 podocyte의 변형이 관찰되는 신장의 각종 유전질환에서 유전 인자의 결합이 발견되고 있고, 이를 통하여 새로운 분자 혹은 알려진 분자의 새로운 기능이 발견되고 있다. 이들 분자의 구조 및 기능에 대한 연구는 극소수의 선천적인 신장 질환 뿐 아니라 podocyte의 형태 변화가 동반되는 거의 대부분의 후천적인 신장 질환의 발생과 경과의 기전을 규명하는데 매우 중요한 단서를 제공할 수 있을 것이다. 연구자들은 podocin과 결합하는 단백질을 검색하고 그 성격을 규명하고자 본 연구를 수행하였다.

방 법 : Mouse kidney에서 얻은 podocin을 PCR을 통해 증폭시킨 다음, *E. coli*에 transformation하여 colony를 얻었다. 이를 가지고 yeast two hybridization 방법을 이용하여 podocin과 결합한다고 추정되는 유전자를 screening 하였다. 그런 다음, 이 유전자를 PCR, cloning하여 규명하였고, 더 나아가 podocin과 in vitro상에서 translation되는지를 확인하였다.

결 과 : PCR, cloning을 통해 podocin construct를 확보한 후, yeast two hybridization 방법을 이용하여 podocin과 결합한다고 추정되는 organic anion transporter (OAT) gene을 찾아내었다. OAT 유전자를 PCR, cloning을 통해 규명한 다음, podocin과 transporter, 이 두 plasmid를 in vitro상에서 translation 시킨 결과, 두 단백질 모두 발현되는 것을 확인하였다.

결 론 : Yeast two hybrid 방법을 이용해 podocin과 OAT가 결합한다는 것과 이들의 발현을 확인하였다. 이러한 결과로부터, podocyte 내에서 두 단백질간의 상호 작용 및 이것이 신장질환에 어떠한 영향을 미치는지에 관해서 보다 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.