

# 단백질 질량분석과 바이오인포매틱스 기법을 이용한 암 특이적 단백질 마커의 발굴

이정현<sup>1</sup>, 고은비<sup>1</sup>, 고은정<sup>1</sup>, 김윤희<sup>1</sup>, 김지연<sup>1</sup>, 안학준<sup>2</sup>, 오정현<sup>3</sup>, 민철기<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>경기과학고등학교, 경기도 수원시 440-800

이주대학교 <sup>2</sup>분자과학기술학과, <sup>3</sup>생명과학과, 경기도 수원시 443-749

## Identification of protein biomarkers in endometrial cancer by using mass-spectrometry and bioinformatics

Junghyun Lee<sup>1</sup>, Eunbee Ko<sup>1</sup>, Eunjung Ko<sup>1</sup>, Yeunhee Kim<sup>1</sup>, Jiyeon Kim<sup>1</sup>, Hakjun Ahn<sup>2</sup>,  
Jeong-Hyun Oh<sup>3</sup>, and Churl K. Min<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Gyeonggi Science High School, Suwon 440-800, Korea

<sup>2</sup>Department of Molecular Sciences and Technology

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Ajou University, Suwon 443-749, Korea

### 요약

프로테오믹스 기법과 바이오인포매틱스 기법을 융합하여 자궁내막암의 진단 및 치료의 타겟이 될 수 있는 단백질 바이오마커의 개발을 수행하였다. 인간 자궁내막암 세포주인 HEC-1A 세포에 발암과 암전이에 중요 인자로 알려진 신데칸-1을 감발현시키는 방법으로 암세포의 암기동을 변화시킨 후, 세포내에서 발현되는 단백질의 변화를 2-D 전기영동과 질량분석 방법으로 조사하였다. 대조군과의 비교를 통해 총 14가지의 단백질이 발현량에 차이가 나는 것으로 밝혀졌다. 이들의 펩티드 맵핑과 *in silico* DB 검색을 통해 각 단백질을 동정하였다. 이들은 기능에 따라 (i) 단백질의 안정성과 회전속도 (turnover rate)에 관여하는 단백질 그룹, (ii) 산화스트레스에 반응하는 단백질 그룹, (iii) DNA 수선에 관여하는 단백질 그룹, (iv) RNA 처리와 운송 (trafficking)에 관여하는 단백질 그룹으로 구분되었다. 장차 이들의 항체를 제작하여 자궁내막암의 진단 및 치료 수단으로서의 가능성을 열어놓았다.

**주제어** : 자궁내막암, 신데칸-1, HEC-1A 세포, 질량분석, 바이오인포매틱스

### 서론

암은 대한민국 성인 사망 원인의 23%를 차지하는 주요 질병으로, 전 세계적으로 암을 퇴치하기 위해 막대한 연구비가 투자되고 있으며, 그 결과로 특정 암, 특히 백혈병 등 혈액암에 대해서는 글리벡과 같은 항암제 개발이라는 가시적인 결과 성과를 얻었다. 그러나 그 외의 많은 종류의 암은 아직도 외과 수술과 방사능요법에 전적으로 의존하고 있으며 말기 암의 경우 치사율이 매우 높다. 따라서 암 발병후 치료보다는 사전에 암의

발생 여부를 진단하는 작업이 더 중요하다. 일반적으로 암을 양성 종양과 악성 종양을 구분하는 방법은 생검을 시행한 후 면역조직화학 검색법을 시행하여 확인하는 방법과 특정 암세포나 조직에서 발현되어 분비되는 단백질 복합체를 혈액이나 조직액에서 추출하여 확인하는 방법이 시행된다. 그러나 위의 방법들 중 면역조직화학 검색법은 효율과 비용이라는 면에서 많은 자원과 시간이 소모되며, 검사를 통한 암 발병을 확정하기까지 숙련된 의사와 병리사 등의 2차 점검이 필요하다. 또한 암세포나 조직에서 발현되어 분비되는 단백질 복합체 (근래 들어 이를 표지 마커라고 한다)를 검사하는 것은 아주 일부의 암에서만 시행되어지고 있다. 예를 들어 여성에게서 주로 발생하는 난소암이나 자궁암의 경우 CA125라고 불리는 특정 마커를 활

\* 교신저자: minc@ajou.ac.kr

• 2010년 8월 7일 접수, 2010년 11월 23일 수정, 2010년 11월 29일 통과

용하여 검출하고 있다 (Gershenson and McGurie, 1998). 그러나 기타의 암의 경우 아직까지 암을 진단할 수 있는 특정 마커가 개발되어 있지 않다.

근래에 들어 위에서 언급한 암 발생 여부를 판단할 수 있는 마커를 찾기 위한 노력으로 단백질 등을 대량으로 분석할 수 있는 2-D 젤 전기영동법과 질량분석법을 도입하여 사용하고 있다 (주현과 한진, 2004; Westermeier and Naven, 2006). (i) 2-D 젤 전기영동은 전하와 질량의 차이에 의한 단백질을 분리하는 방법으로, 잘 준비된 겔을 사용하면 수천 개의 단백질을 1회에 분리할 수 있다. (ii) 2-D 젤 전기영동에 의하여 얻어진 단백질 이미지를 프로세싱하는 것이 가능하다. 전기영동 이미지의 비교는 migration rate의 변이와 local distortion 으로 인하여 단순 작업으로 해결되지 않으며 이미지 처리 작업을 수행해야 한다. 이러한 이미지 처리작업을 수행하는 소프트웨어들이 개발되어 있으며, ImageMaster, PDQuest, Progenesis 등이 있다. 이러한 소프트웨어는 image normalization, spot detection, spot cutting, matching, quantification 등의 기능을 제공하고 있다. (iii) 이미지 프로세싱을 거친 후 겔 상에서 유의한 단백질 스팟을 분리하여 단백질 질량분석 과정 (MALDI-TOF 방법이나 LS-MS/MS 방법)을 거치고, 이 결과를 단백질 데이터베이스 검색을 통하여 단백질을 동정할 수 있다.

신데칸-1 (SDC-1)은 일반적으로 세포 성장 호르몬 수용체의 활성화, 세포-세포/또는 세포와 세포의 기질과의 접합, 세포 증식, 장기 기관의 발달, 기저세포의 형태 변형, 세포 이동, 조직 치료 등의 기능 등을 가진 세포막에 발현되는 막단백질의 일종이다 (Zimmermann and David, 1999). 신데칸-1은 대부분의 대장암, 자궁경부암을 구성하는 암세포에서 과발현되며 암세포의 전이와 침윤에 관계된다고 알려져 있다 (Bernfield et al., 1999; Beauvais and Rapraeger, 2004). 또한 쥐를 사용한 동물 실험에서 Wint를 통한 신호전달 과정에 영향을 주어 흉선암을 유도할 수 있다는 사실이 보고되었으며 (Kato et al., 1995), 혈액암의 경우에 간세포성장인자 (HGF)로 알려져 있는 신호전달 물질의 발현 정도에 영향을 주는 것으로도 보고되고 있다 (Rapraeger, 2001).

이에 본 연구는 자궁내막암에서 암-특이적으로 발현되는 단백질 마커를 찾기 위하여 암의 전이와 침윤에 밀접하게 관련이 된다고 알려진 신데칸-1 (SDC-1)을 자궁내막암 세포에서 감발현시키고, 이에 따른 암세포 내 전체 단백질의 발현 변화 양상을 2-D 젤 전기영동에 의해 구분하고, 젤 전기영동 이미지를

분석하여 감발현에 의해 발현이 차이가 나는 단백질을 인식하며, 단백질 질량분석으로 동정하여 궁극적으로 암세포 특이적인 진단, 치료용 타겟 분자 발굴을 위한 준비 단계의 연구를 수행하고자 하였다.

## 연구 방법

### 자궁내막암 세포주 HEC-1A 세포를 대상으로 SDC-1 감발현 세포주 제작

자궁내막암 세포주 HEC-1A 세포에 존재하는 SDC-1의 감발현은 이전의 보고대로 수행하였다 (Choi et al., 2007). 간략하게 소개하면, 신데칸-1을 타겟팅하는 작은 헤어핀 RNA (shRNA)를 제작하여 세포내로 트랜스펙션시키는 방법으로 신데칸-1의 발현을 감소시켰다. 신데칸-1의 감발현 정도는 웨스턴블롯팅 방법으로 확인하였다.

### 2-D 전기영동

배양 중인 세포를 원심분리로 수확하여 차가운 PBS (phosphate-buffered saline)로 2회 세척한 후 초음파분쇄기 (Sonoplus, Bandelin Electronics, Germany)로 세포분쇄완충액 (50 mM Tris-HCl, pH 6.8, containing 7 M urea, 2 M thiourea, 4 % (w/v) 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), 1 % (w/v) dithiothreitol (DTT), 2 % (v/v) pharmalyte and 1 mM benzamidine)에서 10-20초간 분쇄하였다. 단백질은 실온에서 1시간동안 진탕을 통해 추출하였다. 비용해성 물질은 15,000g의 속도로 4°C에서 1시간 동안 고속원심분리하여 제거하였고, 상등액을 취하여 단백질 농도를 Bradford assay (Bradford, 1976)로 측정한 후, 2-D 전기영동 시료로 사용하였다. Immobilized pH gradient (IPG) dry strips (Biorad, Hercules, CA)를 2% 3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), 1% dithiothreitol (DTT), 1% pharmalyte를 포함하는 7M urea와 2 M thiourea 수용액에서 12-16 시간동안 포화시킨 후 200 mg의 단백질 시료로 로딩하였다. Isoelectric focusing (IEF)은 20°C에서 Multiphor II electrophoresis unit과 EPS 3500 XL power supply (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden)를 사용하여 제조사 안내에 따라 수행하였다 (전압을 150 볼트에서

3,500 볼트로 처음 3시간동안 선형적으로 증가시켰고 이후 focusing이 완료될 때까지 3,500 볼트로 유지하였다. 2차원 전기영동을 수행하기 전에 단백질이 들어있는 strips를 다음의 평형 완충액 (50 mM Tris-Cl, pH 6.8, containing 6 M urea, 2 % SDS and 30 % glycerol, first with 1% DTT and second with 2.5% iodoacetamide)에서 10 분간 배양하였다. 평형화된 strips를 20 x 24 cm 크기의 10-16 % linear polyacrylamides로 구성된 SDS-PAGE 겔에 삽입한 후 Hoefer DALT 2D system (Amersham Biosciences)을 사용하여 20°C에서 1,700 Vh 동안 2-차원 전기영동을 수행하였다. 2-D 겔은 silver staining (Oakley et al, 1980)으로 염색하여 단백질 스팟을 얻었다.

### 이미지 분석

2-D 겔의 디지털화된 이미지의 정량적 분석은 PDQuest (버전 7.0, Biorad)를 사용하여 수행하였다. 각 스팟의 강도는 전체 유효 스팟 강도와 비교하여 표준화하였고 단백질 스팟은 대조군과 비교하여 2배 이상의 차이가 나는 것만 선별하였다.

### MALDI-TOF 질량 분석과 데이터베이스 검색

단백질 스팟은 겔 상에서 Shevchenko 등이(Shevchenko et al, 1996) 이전에 서술한대로 트립신을 이용하여 분해하였다. 겔 조각을 50% acetonitrile로 세척하여 SDS, 염, 염색약을 제거한 후 건조시켜 용매를 제거하였다. 건조된 겔 조각은 다시 트립신용액 (8-10 ng/ $\mu$ )에 넣고 37°C에서 8-10 시간동안 반응시켰다. 단백질 가수분해 반응은 0.5% trifluoroacetic acid를 5.0  $\mu$ l 가하여 중단시켰다. 트립신에 의해 잘린 펩티드는 50% 수용성 acetonitrile로 수차례 추출하여 수용액 성분으로 회수하였

다. 원심분리 후 펩티드 혼합액은 C<sub>18</sub>ZipTips (Millipore, Billerica, MA)를 사용하여 염을 제거하고 1-5  $\mu$ l 의 acetonitrile로 추출하였다. 펩티드 추출 용액의 일정량을 동량의 50% acetonitrile로 포화된  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid와 혼합한 후 혼합액 1.0  $\mu$ l를 타겟 플레이트에 점적하였다. 단백질 질량 분석은 Ettan MALDI-TOF (Amersham Biosciences)를 사용하여 수행하였다. 펩티드를 337 nm에서 N<sub>2</sub> 레이저로 delayed extraction approach 방법으로 기화시킨 후 20 Kv injection pulse로 가속하여 비행시간을 측정하였다. 각각의 스펙트럼은 300회 레이저 기화의 누적 평균이다. 펩티드 질량 맵핑은 Rockefeller University ([http://129.85.19.192/profound\\_bin/WebProFound.exe](http://129.85.19.192/profound_bin/WebProFound.exe))에서 개발한 소프트웨어 ProFound를 사용하여 수행하였다. 스펙트럼은 트립신 자동 가수분해 이온 피크인 *m/z* (842.510, 2211.1046)를 내부 표준으로 사용하여 사정하였다. 얻어진 펩티드의 아미노산서열을 웹베이스 검색 엔진을 이용하여 동정하였다.

### 연구 결과

#### 신테칸-1 변화에 따른 HEC-1A 세포 내 프로테옴 변화

SDC-1이 정상적으로 발현되어 있는 HEC-1 세포 (대조군)와 shRNA로 SDC-1 발현이 감소한 HEC-1 세포의 전체 용해성 단백질을 분리한 후 2-D 전기영동을 수행하였다. 2-D 전기영동으로 용해성 단백질을 2차원적으로 분리한 후 대조군과 실험군의 2-D 전기영동 겔을 이미지 프로세서를 사용하여 정량화하고 차이가 나는 spot들을 구분하였다. 이미지 프로세싱을 통하여 발현 정도가 2배 이상 차이가 나는 spot들을 상호 비교한 후, 각 spot들의 intensity별로 동정하여 각각의 번호를 부여하였다

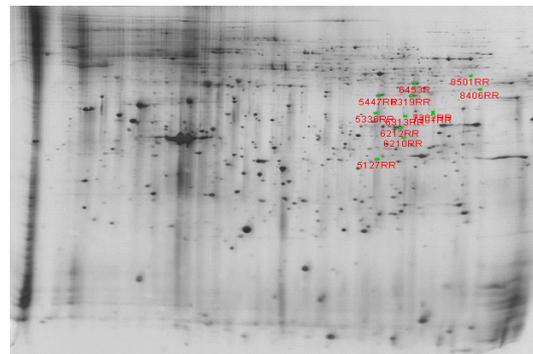
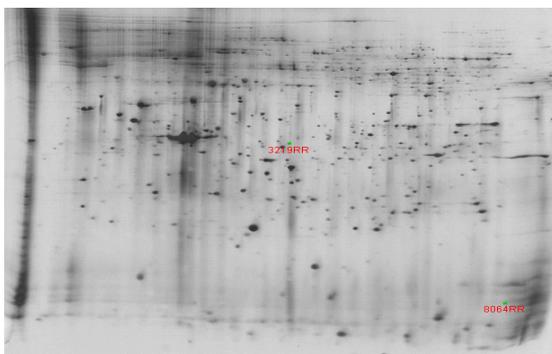
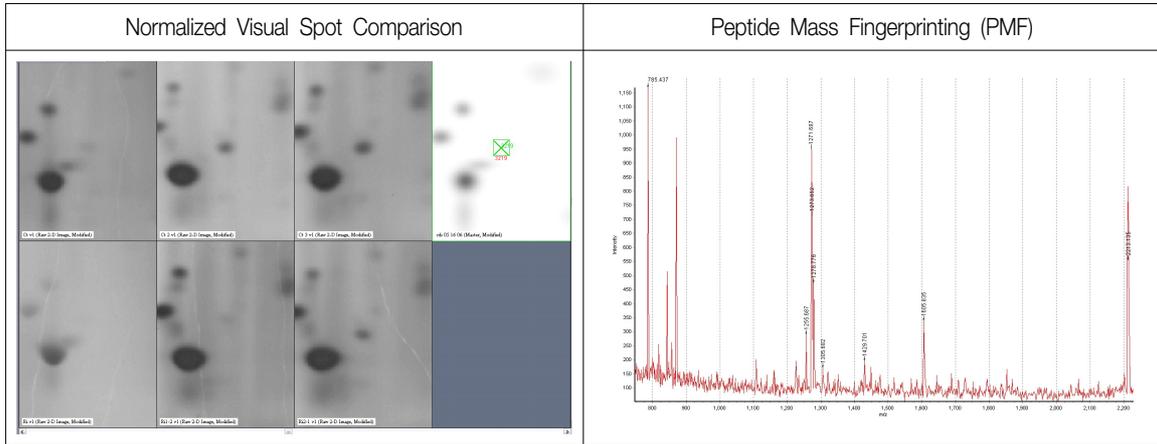


그림 1. 2-D 전기영동 겔 상에서의 단백질 spot 비교 및 ID화.

A



B

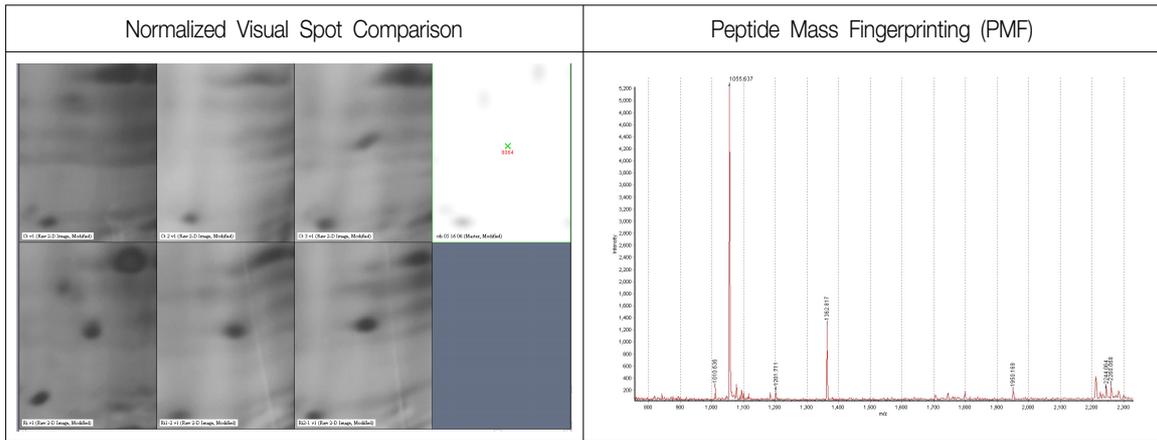


그림 2. 단백질 spot enhancement 과정과 펩티드 맵핑. A: spot ID 3219. B: spot ID 8064.

(그림 1).

### MALDI-TOF 단백질 질량분석과 펩티드 맵핑

2-D 젤 상에서 유의적으로 대조군과 차이가 나는 단백질 spot를 트립신으로 가수분해하여 생성된 펩티드를 MALDI-TOF 단백질 질량분석으로 peptide mass fingerprinting (PMF)을 수행하였다. 아래의 그림은 대표적인 2가지 단백질 스팟의 젤 이미지와 PMF에 의해 결정된 펩티드 서열을 나타낸 것이다 (그림 2). 이와 같은 방법으로 대조군과 유의하게 차이가 나는 14개의 단백질 스팟에 대해 각각 PMF를 얻었고, 각 단백질의 2-D 전기영동 상에서 보이는 여러 가지 물리, 화학적 성질을 측정하였다 (표 1).

또한, 이 결과를 기 구축되어진 단백질 데이터베이스와 *in silico* 상에서 비교하여 동정된 단백질의 명칭과 발현 정도 여부를 정리하였다 (표 2). 각각의 단백질들은 세포 내에서의 기능에 따라 다시 구분할 수 있다. 먼저 단백질 안정성에 관여되는 단백질은 interferon, alpha-inducible protein, cytosol aminopeptidase, chaperonin containing TCP1, subunit 2, chaperonin containing TCP1, subunit 3 isoform a, chaperonin containing TCP1, subunit 6A isoform a이다. 다음으로 반응성 산소 부족으로 인한 stress 대응에 관여하는 단백질들은 transaldolase 1와 aldehyde dehydrogenase family 7 member A1 (antiquitin-1)이다. 또한 일부는 세포 내 DNA의 안정성 및 수리에 관여하는 단백질 군으로 RuvB-like 1, TIP49a와 ATP- dependent DNA helicase II, 70 kDa subunit (Ku70)이며, 나머지 5개의 단백질은

표 1. 신데칸-1에 의해 발현 차이를 보인 단백질들의 발현량 변화와 물리, 화학적 특성.

Spot ID	분자량	등전점(pI)	대조구		Silenced		발현변화
			quantity		quantity		
5127	39,42	6,82	1041,34	746,18	546,71	417,4	down
5336	50,5	6,75	781,04	770,58	440,25	523,87	down
5447	56,72	6,81	1140,77	625,98	411,12	455,65	down
6210	44,13	7,11	394,95	243,42	62,63	81,78	down
6212	46,69	7,13	1995,89	1892,08	642,67	756,31	down
6313	49,65	7,18	404,81	450,52	162,94	103,04	down
6319	55,28	7,27	1362,37	1200,91	540,37	329,42	down
6453	64,33	7,36	1239,77	823,67	429,53	473,42	down
7301	50,38	7,64	110,72	110,66	23,78	8,16	down
7302	50,79	7,64	81,42	82,43	15,74	12,84	down
8406	59,34	8,55	544,97	1040,56	202,19	124,96	down
8501	68,92	8,39	275,03	486,32	122,46	243,62	down
3219	42,8	5,57	204,51	225,97	13,29	168,06	down
8064	12,46	8,65	110,28	852	1927,8	3079,82	up

표 2. HEC-1A 세포에서 신데칸-1에 의해 차등적으로 발현된 단백질의 목록.

Spot ID	Protein name	발현변화
5127	transaldolase 1	down
5336	chaperonin containing TCP1, subunit 2	down
5447	chaperonin containing TCP1, subunit 3 isoform a	down
6210	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1	down
6212	probable ATP-dependent RNA helicase DDX48 (DEAD box protein 48)	down
6313	RuvB-like 1, TIP49a	down
6319	chaperonin containing TCP1, subunit 6A isoform a	down
6453	ATP-dependent DNA helicase II, 70 kDa subunit (Ku70)	down
7301	Aldehyde dehydrogenase family 7 member A1 (antiquitin-1).	down
7302	cytosol aminopeptidase	down
8406	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L isoform a	down
8501	ATP-dependent RNA helicase DDX3X	down
3219	THO complex 3	down
8064	interferon, $\alpha$ -inducible protein	up

RNA processing에 관여하는 것으로 확인하였다.

## 논 의

본 연구는 자궁내막암에서 암-특이적으로 발현되는 단백질 마커를 찾기 위하여 암의 전이와 침윤에 밀접하게 관련이 된다

고 알려진 신데칸-1을 자궁내막암 세포에서 감발현시키고, 이에 따른 암세포 내 전체 단백질의 발현 변화 양상을 2-D 젤 전기영동 이미지를 분석하여 감발현에 의해 발현이 차이가 나는 단백질을 인식하고, 단백질 질량분석으로 동정하여 궁극적으로 암세포 특이적인 진단, 치료용 타겟 분자 발굴을 위한 준비 단계의 연구를 수행하였다.

구분된 단백질의 명칭을 통하여 *In silico* 분석을 재차 진행하여 자궁내막암세포의 암화 및 전이, 침윤에 가장 밀접한 영향을 줄 수 있을 것으로 추정되어지는 단백질을 구분하였다. SDC-1의 mRNA의 일부 염기서열을 인식하여 결합함으로써 SDC-1의 번역을 억제하는 small interfering RNA (siRNA)을 트랜스펙션하여 SDC-1의 발현을 억제한 결과 13개의 단백질의 발현 정도가 감소하였으며, 1개의 단백질은 발현 정도가 증가하였다. SDC-1 siRNA을 트랜스펙션하게 되면 HEC-1의 성장이 저해되며, 일부의 HEC-1 세포는 세포사를 통하여 오히려 수가 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 발현이 감소된 특정 단백질의 복합적인 세포질 내에서의 기능의 저해에 기인한 것으로 유추되어진다. 본 연구의 결과물에 기인하여 HEC-1A 세포의 암화에 영향을 줄 수 있는 단백질로 추정되는 것은 ATP-dependent DNA helicase II, 70 kDa subunit (Ku70)으로 사료된다.

ATP-dependent DNA helicase II, 70 kDa subunit (Ku70)는 Lupus Ku autoantigen protein p70, X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 6, X-ray repair cross-complementing 6 (XRCC6) 등으로 불리는 단백질로 인간에서 XRCC6 유전자에서 암호화되는 것으로 알려져 있다. Ku70은 Ku80과 heterodimer를 형성하며, DNA의 염기 서열 여부와는 관계없이 DNA와 결합할 수 있다. Ku70의 여러 가지 기능 중에서 가장 많이 밝혀진 것은 DNA의 nick을 인식하여 수리하는 것이다. 그러나 근래에 들어 Ku70이 telomerase reverse transcriptase와 상호작용을 하고, telomerase의 발현에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다.

Telomerase는 진핵생물 염색체의 말단을 의미하는 telomere 영역에 있는 DNA 말단 3에 특정한 DNA 염기 서열 (TTAGGG)을 첨가하는 효소이다. Telomeres는 중첩되어져 있는 DNA 서열이 포함되어 있으며, 이는 염색체의 안정성에 중요한 역할을 한다. Telomerase는 역전사가 가능한 효소로, 반복되어지는 세포분열의 결과로 발생하는 telomere의 짧아짐을 억제한다. Telomerase는 telomeres가 짧아지게 되면 이를 인식하여 자체적으로 가지고 있는 RNA를 역전사하여 telomeres의 길이를 길게 만드는 기능을 나타낸다. Telomere의 길이의 변화는 노화와 암발생과 밀접한 영향을 가진다. 지금까지 보고된 결과로 미루어보면 세포분열이 반복적으로 진행된다면 telomeres가 점점 짧아지게 되고, telomeres의 길이가 어느 수준 이하로 줄어들게 되면 세포사로 이어지게 된다. 반면에 발생되어진 암세포의 경

우 세포분열이 반복되어져도 telomeres의 길이가 줄어들지 않으며, 이는 정상 세포에 비하여 telomerase의 발현 정도와 기능이 활발하기 때문이라고 사료된다. 위의 ATP-dependent DNA helicase II, 70 kDa subunit (Ku70)의 기능이 DNA 수리뿐만 아니라 telomerase와 상호작용을 통하여 telomerase의 안정성에 관여한다는 보고가 증가하고 있고, telomerase의 발현 정도에도 영향을 준다는 일부의 보고도 있다. 위의 보고들과 본 연구의 결과를 종합해보면 자궁내막암세포에서 발현이 증가된 SDC-1은 세포내 신호 전달을 통하여 Ku70의 발현을 증가시키며, 증가된 Ku70은 Ku80과 이중 복합체를 형성하여 telomerase의 발현 및 안정성을 증가시켜 자궁내막상피세포의 암화에 영향을 미치는 것으로 유추할 수 있다.

## 결론 및 제언

현대 생물학은 IT 기술을 접목하여 다량의 생물학적 정보를 빠른 시간에 처리하여 기존의 전통적인 생물학적 연구 기법을 사용하여 연구 결과를 확인할 때까지 소요되는 시간에 비하여 연구에 필요한 시간과 노력을 상당히 감소시킬 수 있으며, 기존의 단일 단백질의 연구에서 벗어나 많은 종류의 단백질을 동시적으로 연구, 분석하여 적용할 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한 연구 내용이 학문적으로 창의성이 있고 다양한 실험 기법을 접함으로써 고등학생으로 단백질학, 생화학, 생물정보학, 구조생물학, 암생물학 개념과 최근 연구 기법을 습득할 수 있는 기회가 되었으며, 암 진단용 바이오마커 개발이라는 생물공학 분야에 직접적 참여를 통해 학교에서 배울 수 없는 실험적 지식과 이론을 현장에서 직접적으로 체감하게 되어 이들의 창의성을 유도할 수 있었던 좋은 기회이었다.

## Abstract

Syndecan-1 plays a key role in invasion and metastasis in endometrial cancer by helping liberate vital signals. Identification of proteins that associate with syndecan-1-enhanced cancer invasion and metastasis is a first step towards better response prediction and tailored treatment of patients. In the present study, we intended to identify putative protein biomarkers indicative of syndecan-1-induced invasion and metastasis in endometrial cancer, using 2-D gel electrophoresis coupled with MALDI-TOF mass-spectroscopy. Comparative proteome analysis was performed on human endometrial car-

cinoma (HEC)-1A cells that were treated with shRNA targeting syndecan-1, also referred to as 'HEC-1A/SDC-1 KD'. Peptides and proteins were identified by matching mass and pI values on 2-D gels obtained from HEC-1A/SDC-1A KD and its co-responding control cells by using an image enhancement software PDQuest. Comparative proteome analysis revealed 14 putatively and differentially abundant proteins between HEC-1A and HEC-1A/SCD-1 KD cells, and identification of 14 differentially abundant proteins was performed by peptide-mapping and the *in silico* database searching. They were further classified into subgroups based on their common functionality, including (i) protein stability and repair, (ii) oxidation stress, (iii) DNA repair (iv) RNA processing and trafficking. In the next studies, antibodies raised against these putative biomarkers will be tested for their relevances in endometrial cancer diagnosis and intervention.

## 사 사

본 연구는 2009년도 경기도지원 경기과학고 R&E 프로그램 지원에 의해 수행되었습니다.

## 참고 문헌

주연, 한진 (2004) 프로테오믹스: 단백질에 대한 이해 및 기능 해석의 새로운 접근. 범문사.  
Beauvais DM, Rapraeger AC (2004) Syndecans in tumor cell adhesion and signaling. *Reprod. Biol. Endocrino.* 1 2:1-12.  
Bernfield M, Gotte M, Park PW, Reizes O, Fitzgerald ML, Lincecum J, Zako M (1999) Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu. Rev. Biochem.*

68:729-77.

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.  
Choi, DS, Kim JH, Ryu HS, Kim HC, Han JH, Lee JS, Min CK (2007) Syndecan-1, a key regulator of cell viability in endometrial cancer. *Int. J. Cancer* 121:741-50.  
Gershenson DM, McGuire WP (1998) *Ovarian Cancer: Controversies in Management*, 2nd Ed, Churchill Livingstone Inc. pp 3-20.  
Kato M, Saunders S, Nguyen H, Bernfield M (1995) Loss of cell surface syndecan-1 causes epithelia to transform into anchorage-independent mesenchyme-like cells. *Mol. Biol. Cell* 6:559-76.  
Oakley BR, Kirsch DR and Morris NR (1980) A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 105:361-363.  
Rapraeger AC (2001) Molecular interactions of syndecans during development. *Semin. Cell. Dev. Biol.* 12:107-16.  
Shevchenko A, Wilm M, Vorm O and Mann M (1996) Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide. *Gels. Anal. Chem.* 68:850-858.  
Westermeier R, Naven T (2006). *Proteomics in practice: a guide to successful experimental design*, 3rd Ed, Wiley-VCH, pp35-70.  
Zimmermann P, David G (1999) The syndecans, tuners of transmembrane signaling. *FASEB. J.* 13 (Suppl):S91-S100.