

과업지시서

1. 사업명	고위험군 임신부 예측을 위한 질 분비물 내 당단백체 분석		
2. 사업기간	계약체결일 ~ 2023년 12월 15일 (약 3주)		
3. 사업예산	총 41,000,000 원(부가세 포함)		
4. 대금지급방법	용역	완료 후 전액 지급 【 0 】	선금지급 【 】 ※ 총 용역금액의: %
	유지보수	월 1회 【 】	기타: 【 】
5. 과업내용	<p>1. 추진 배경 및 목표</p> <p>○ 바이오마커 연구에서 당단백질의 필요성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 단백질들은 대부분 번역 후 수식화(post-translational modification, PTM)과정을 겪게 되는데 이때 단백질의 고유 기능이 부여됨. 그 중에서 대표적인 PTM인 당화(glycosylation)는 단백질에 당쇄(glycan)가 결합되는 과정임. - 당단백질은 세포 면역 시스템에서 신호 전달 및 면역 반응에 매우 중요한 역할을 함. 결과적으로 이러한 당단백질에 의한 상호작용에 문제가 발생한다는 것은 당화(glycosylation)과정의 변화가 원인일 수 있음. - 기존의 단백질 바이오마커는 정량적인 변화만 측정하고 있음. 하지만 생체 시스템에서 단백질의 역할을 명확히 이해하기 위해서는 당화를 비롯한 단백질의 번역 후 수식화 (PTM)과정의 연구를 반드시 진행해야 함. <p>○ Cervicovaginal fluid (CVF) 내 당단백질 연구 현황</p> <ul style="list-style-type: none"> - 임신부의 조산과 관련된 단백질 및 당화 연구 사례는 있지만 아직까지 당단백질 수준에서의 당화의 변화량을 이용한 바이오마커 연구 사례는 없음. - 단백질과 당화를 개별적으로 분석하게 되면 제한된 정보만 수집이 가능하므로 당단백질 수준에서의 분석 기술이 요구되고 있으며 관련 연구가 필요한 상황임. 		

○ 추진 목표

- Cervicovaginal fluid (CVF) 샘플 내 당단백질을 고감도로 분석하기 위한 분석법을 최적화함.
- 임신부의 CVF 샘플 내 당단백질을 분석하여 조산 특이적인 당화(glycosylation)을 확인하고 관련된 당단백질 후보군들을 발굴하는 것을 목표로 함.
- 통계분석, GO analysis, protein-protein interaction, 생물학적 pathway 분석을 완료하여 CVF 내 특이적인 당단백질 후보군의 functional analysis를 수행하여 고위험군 임신부의 조산 특이적 정보를 수집하는 것을 목표로 함.

2. 과업 내용

○ 당단백체 분석을 위한 CVF 샘플 전처리

- 고감도 당단백질 분석을 위해 Reduction, Alkylation 및 Trypsin 가수분해(digestion) 과정을 거쳐 펩티드 및 당펩티드 혼합물을 제조함.
- HILIC 농축(enrichment) 기술을 이용하여 상대적으로 낮은 농도의 샘플 내 N-연결형 당화를 가지는 당펩티드(N-glycopeptide)를 선택적으로 농축함.
- 최종적으로 질량분석 전 정제(desalting)과정을 통해 샘플의 불순물들을 제거함.
- 당단백질의 당펩티드(N-glycopeptide) 정량 분석을 위해 TMT (Tandem Mass Tag) 기술을 활용함.

○ 고분해능 당단백체 질량분석 데이터 수집

- Liquid Chromatography : Thermo Scientific Vanquish Neo UHPLC System
- Mass Spectrometry : Thermo Scientific Orbitrap HF-X Mass Spectrometry
- 당펩티드 동정을 위해서 HCD fragmentation 기능을 이용하여 탄뎀 질량분석(MS/MS) 스펙트럼을 수집함.

○ CVF 샘플 내 당단백질 정성 및 정량 분석

- 자체 개발한 당단백질 분석 파이프라인을 이용하여 높은 정확도로 당단백

	<p>질 질량분석 데이터를 분석할 수 있음.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 당단백질 분석 파이프라인을 이용하여 N-연결형 당화(N-glycosylation)가 발생한 당단백질의 아미노산(amino acid) 위치까지 정확하게 분석함. <p>○ 고위험군 임신부 예측을 위한 당단백질 바이오마커 발굴</p> <ul style="list-style-type: none"> - 통계분석을 수행하여 p-value, standard deviation, coefficient variation, 그리고 fold change값을 계산한 후 최종적으로 differential expression되는 당화를 확인함. - 통계 결과를 바탕으로 고위험군 임신부와 관련되는 것으로 보이는 당화(glycosylation) 및 당단백질 목록을 확보함. - Protein-protein interaction, GO analysis, 및 pathway 분석을 수행함. 추가적으로 고위험군 임신부와 관련된 diseases 연관관계 분석 등 bioinformatics 분석을 수행함. <p>○ 최종보고서 제출</p> <ul style="list-style-type: none"> - 최종보고서에는 분석개요, 목적, 샘플, 방법, 및 결과가 포함되도록 구성함. - 결과는 분석 목적에 적합한 그림 및 표로 제작되며 box plot, venn diagram, volcano plot, 및 heatmap으로 구성함. - 정성 및 정량분석 결과 목록은 당펩티드(N-glycopeptide) 기준으로 엑셀 형식으로 제공함. - 최종보고서는 영문으로 작성함. <p>4. 과업수행지침</p> <p>○ 일반사항</p> <ul style="list-style-type: none"> - 과업지시서에 따라 과업이 완료될 수 있도록 함. <p>○ 저작권 및 보안사항</p> <ul style="list-style-type: none"> - 과업이 완료되기 이전까지 진행 내용 및 결과물이 외부에 유출되지 않도록 관리함.
6. 과업수행결과물	1. 분석계획서(Protocol)

	<ul style="list-style-type: none"> 2. 질량분석 RAW 데이터 3. 샘플 전처리 및 질량분석에 대한 QC 결과물 4. CVF 샘플 내 당단백질 정성 및 정량 분석 결과 5. 당단백질 정성, 정량 분석 결과를 요약한 그림 및 표 6. 결과보고서
7. 참가자격	수행 실적 보유
8. 참가자격 관련 제출서류	사업 수행 실적 증명 자료
9. 성범죄자 경력 조회	
10. 기타사항	
11. 사업부서 및 연락처	이화여대 의과대학 김영주 교수님 연구실 담당자: 고윤영 02-2650-5012 / 이민영 02-2650-5013