

단백질의 설계 원리를 푼다

Matsuo Yo/계놈과학종합센터

최근 계놈에 코딩된 단백질의 입체구조 정보를 계통적·종합적으로 연구하는 Structural Genomics가 활발히 진행되고 있다. 또한 생체내에서 적절하게 상호작용하는 특이적인 단백질군의 구성과 그 단백질간 또는 다른 생체 분자와의 상호 작용을 계통적으로 밝히는 Proteomics도 활성화되고 있다.

단백질의 입체구조·상호작용에 대한 연구는 다양한 생명현상을 만드는 생체 분자계의 기능 메커니즘을 밝히는 기반으로 작용할 것이다.

■ 서론

단백질은 아미노산 서열에 따라 일정한 구조로 folding되어 있고 그 구조에 따라 특이적인 기능을 갖고 있어, genome 서열결정 후의 중요한 과제

대두되고 있다. 기존의 유전자에서 해독된 단백질의 입체구조 정보를 계통적·종합적으로 연구하는 “Structural Genomics”가 시작되고 있으며, 이런 입체구조 정보는 기능 메커니즘을 원자·분자 수준에서 이해하기 위한 필수 사항이며, 단백질을 표적으로 하는 유용화합물과 변형된 단백질의 신규기능 설계를 가능하게 한다. 또 입체구조를 비교함으로써 단백질간의 먼 진화적 상관관계를 알 수도 있다.

한편 생체내에서 각 단백질의 역할은 다른 단백질 또는 생체분자들과 상호 작용을 통하여 나타난다. 그래서 다양한 세포종에서 각 시기에 활동하는 단백질군의 총체를 밝히고, 이 단백질과 분자들의 상호작용을 계통적으로 연구하기 위하여 “Proteomics”가 등장하였다. 이러한 상황에서 intact한 단백질의 설계 원리(진화)와 응용상의 설계원리를 밝히는 연구가 계속 진행되고 있다.

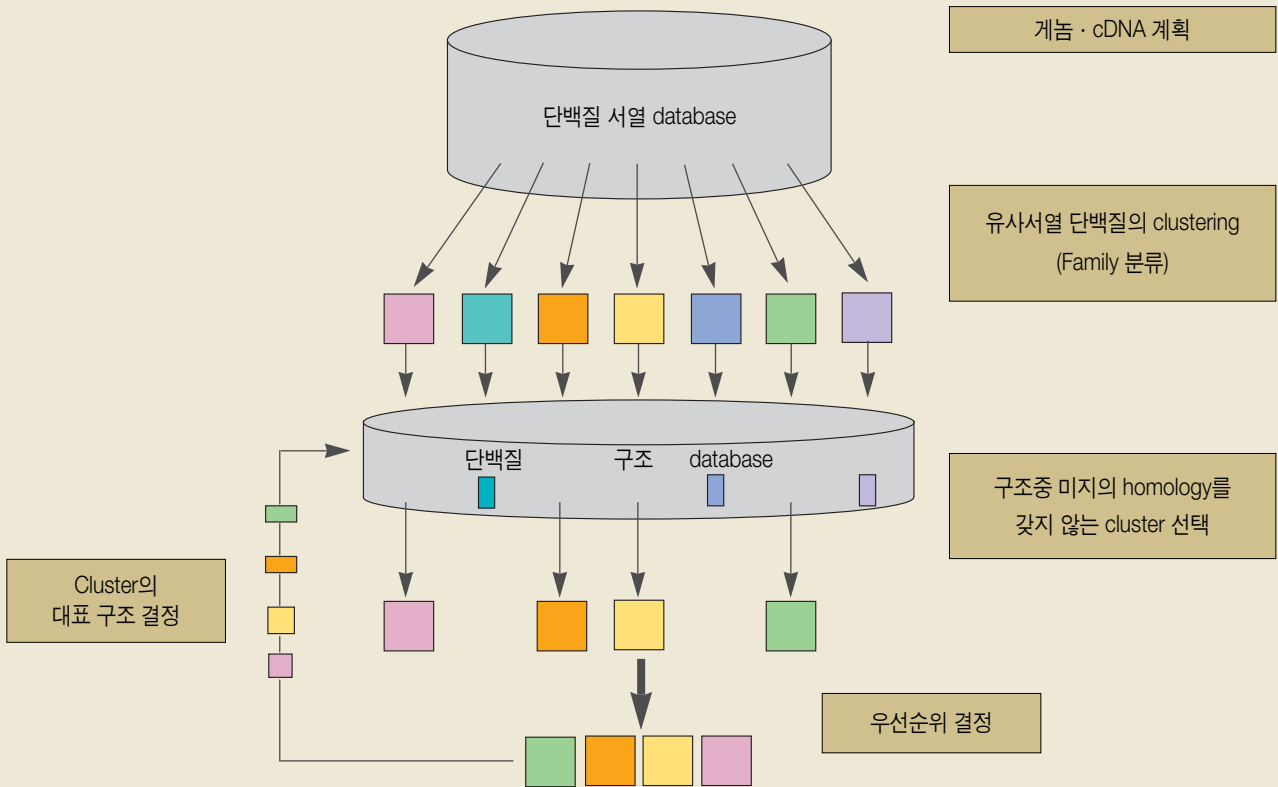


그림 1 구조 genomics의 계통적 입체구조 결정
단백질을 cluster로 나누어, cluster에 우선 순위를 두고 cluster의 대표 단백질의 구성을 실험적으로 결정한다.

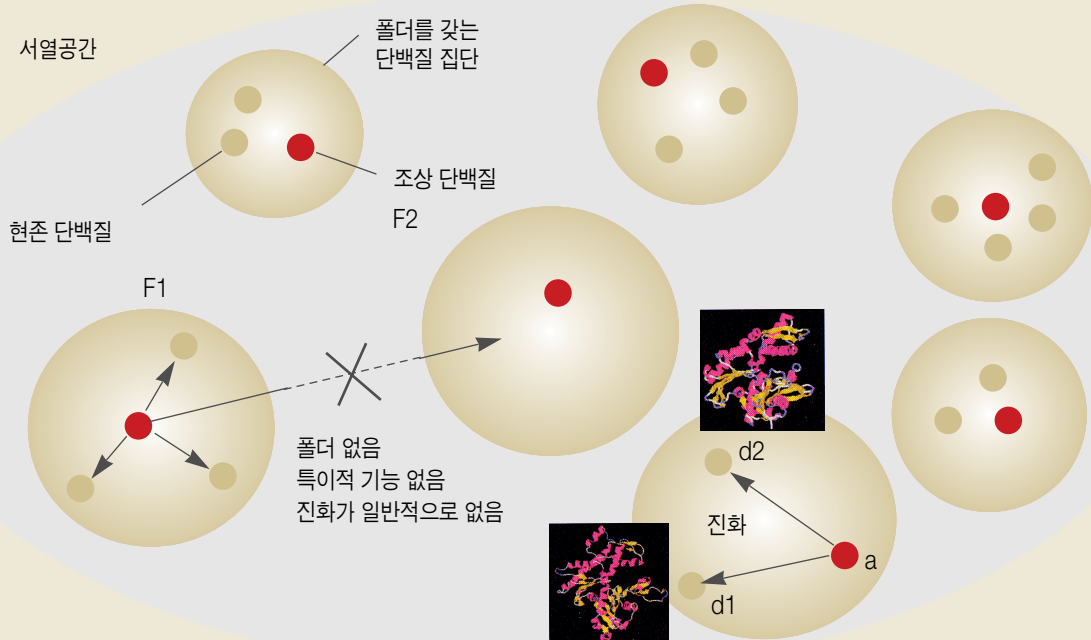


그림 2 입체구조는 왜 진화 과정에서 잘 보존되는가.

F1, F2는 각각 folding을 갖는 단백질 집단을 나타내고 있다. d1은 actin(PDB code; 1ATN-A), d2는 70 kDa heat shock protein ATPase domain(1NGF-A)이며, a는 가상적인 공통 조상을 나타낸다.

■ Structural Genomics

최근 보고되고 있는 단백질의 입체구조는 이전과 비교하면 매우 급증하고 있다. 1989년까지 Protein Data Bank(PDB, <http://www.rcsb.org/>)에 등록된 수는 모두 459개에 지나지 않았지만, 1990년 1년만에 200개 이상, 1994년에는 연간 1,000개, 1998년 이후에는 연간 2,000개가 넘어 2000년 9월까지 약 12,000개로 증가하였다. 그러나 결정되는 구조 배열 수는 유전자 배열 수에 비하면 3자리 정도나 작다. 예를 들면, 수만종의 인간 단백질의 구조를 문자 그대로 순서 없이 결정만 하는 것은 상당히 비현실적이다.

그래서 다수의 구조가 결정된 많은 단백질에서 다음과 같은 기준으로 목적 단백질을 선택한다^{1), 2)} (그림 1). ① 유사한 아미노산 서열을 갖는 (homology 약 30% 이상) 단백질군을 하나의 cluster로 한다. ② 생물의 학적으로 중요한 기능을 갖는 cluster를 우선 순위에 둔다³⁾. ③ 각 cluster에서 한 개씩 대표를 정해 구조를 결정하여, 전 세계적으로 5~10년후 1만 cluster를 확보하는 것이 목표이다(http://www.nigms.nih.gov/funding/psi/lay_summary.html). 단백질의 folding은 진화적으로 매우 잘 보존되어 있어, 30% 이상의 homology를 가질 경우 거의 확실한 진화적 관계를 나타낸다. 따라서 ①에서 같은 cluster에 속하는 단백질군은 기본적으로 같은 폴터를 공유한다. Cluster의 대표적인 입체구조를 실험적으로 결정할 때,

homology 모델을 이용하여 같은 단백질군에 속하는 다른 단백질의 구조를 거의 정확하게 예측할 수 있다.

분자 치환법을 이용하여 비교적 쉽게 할 수 있으며, 35% homology를 기준으로 단백질을 분류하면, 단백질 수의 약 10%에 해당하는 cluster를 얻을 수 있다(http://www.nigms.nih.gov/news/meeting/structural_genomics_targets.html). 예를 들면 인간 유전자의 수가 약 10만이라고 가정 한다면 약 1만 cluster를 얻을 수 있고, 현재의 구조 결정 속도(연간 약 2,000개)로 단순 계산하면 약 5년 내에 완성할 수 있다. 단 현재의 구조 결정 속도(연간 약 2,000개)는 cluster 단위가 아닌 단백질 단위로 목표 달성을 위해서는 한층 고속화·자동화된 시료 발현·정제를 포함한 구조결정 시스템의 개선이 요구된다⁴⁾.

■ 구조 비교에 의한 진화적 관계의 검출

동일 조상 단백질(유전자)에서 유래하는 단백질간의 진화적 관계(homology)를 밝히는 방법에는 orthology와 paralogy가 있다. Orthology는 동일 조상 단백질에서 분화된 종들의 동일성이 높은 유전자를 밝히는 것이고, paralogy는 단일종의 유전자 중복으로 동일성이 높은 유전자를 밝히는 것이다. 즉, 인간과 고래의 myoglobin의 관계는 orthology이고, myoglobin α chain · β chain의 관계는 paralogy인 것이다.

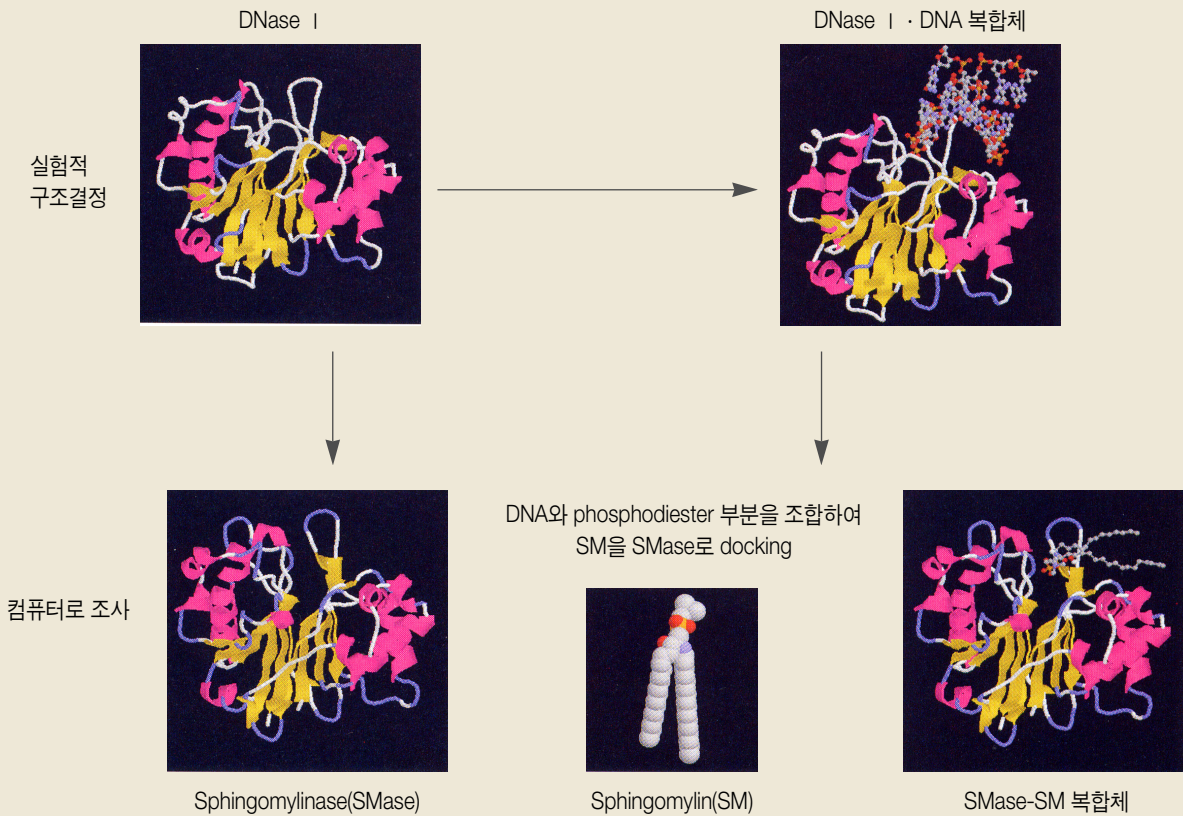


그림 3 Sphingomyelinase-sphingomylin 복합체 구조 모델

박테리아의 sphingomyelinase(SMase)는 진화적으로 포유류의 DNase I 과 밀접한 관계가 있는 것으로 예측된다. 그래서 DNase I 의 미지 구조(PDB code; 1DNK)를 이용하여 SMase 구조를 모델화하였다. 또 그 모델 구조와 DNase I -DNA 복합체의 미지 결정 구조(PDB code; 1DNK)를 이용하여, SMase와 sphingomylin(SM)의 복합체 구조 모델을 얻었다. Sphingomylin(SM)의 phosphodiester 결합이 복합체 구조 중의 DNA와 대응하는 phosphodiester 결합과 합쳐지도록 SMase에 docking시켰다.

Orthologous한 단백질은 일반적으로 동일한 생리 기능을 유지하기 위하여, 비교적 서열이 잘 보존되어 있고, paralogous한 단백질은 변이를 거듭하여 새로운 기능을 얻으므로 서열간의 유사성은 상당히 낮게 나타난다. 기존의 단백질간의 진화적 관계는 주로 서열비교를 통하여 이루어 졌으며, 약 20~25%의 homology를 갖는 것은 유사 판별이 곤란하여, 다양한 진화적인 관계를 예측할 수 있다.

이와 같이 간과할 수 있을 정도의 먼 진화적 관계일지라도, Structural Genomics가 발전함에 따라 많은 진보가 있을 것으로 기대된다. 분자의 진화과정에서 서열 유사성이 없는 분자라도 folding은 잘 보존되어 있다^{5), 6)}. 예를 들면 actin과 70 kDa heat shock protein ATPase domain 사이의 진화적 관계는 구조비교를 통하여 보다 명확하게 밝혀졌다. 가능한 아미노산 전체 서열 중에서 안정된 구조(특이적인 기능)를 가지는 것은 한정되어 있고, 진화 과정에서 서열을 서서히 변화시켜 기능에는 영향을 미치지 않고 folding을 변화시키는 것은 상당히 어렵다(그림 2).

■ 기능 · 기능 메커니즘의 이해를 위하여

단백질의 기능은 분자 수준의 기능(분자기능)과 생체 중에서의 역할(생리 기능)로 나눌 수 있다. 각각은 *in vitro*, *in vivo*의 개념으로 생각할 수 있

다. 분자기능은 다른 원자 · 분자와 특이적인 상호 작용을 하는 방법이다. 일반적으로 하나의 단백질은 많은 분자 기능을 가지고 있다. 예를 들면 약을 조제하는 과정에서 동정된 많은 약제 후보물질의 결합은 각각 그 단백질의 분자기능이라고 말할 수 있다. 생리기능은 분자 중 어떤 것이 생체 내에서 작용하여 생기는 단백질의 역할이다. 예를 들면 헤모글로빈은 산소보다 일산화탄소와 강하게 결합하지만, 생리기능은 산소의 결합 · 운반이다.

계놈 계획으로 많은 미지의 단백질이 밝혀졌으나, 이 단백질들의 미지 기능 · 기능 메커니즘을 high throughput으로 해명해 나가야 한다. Two-hybrid법, 표면 plasma 공명, 질량 분석 등으로 분자간 상호 작용 데이터를 계통적으로 파악하고 조합함으로써 분자 기능 메커니즘을 보다 쉽게 이해할 수 있다. 또 DNA Microbeads, 2D-electrophoresis, 질량 분석 등을 이용하여 유전자 · 단백질 발현 profile를 수집하여 각 단백질이 생체 내에서 어떤 단백질군과 상호 작용하는지에 대한 자료를 축적하였으며, 이 자료는 분자 기능을 이해함으로써 생리 기능을 이해할 수 있게 한다.

한편 이런 자료가 축적됨에 따라, 계산에 의한 기능 · 기능 메커니즘 추정 가능성이 확대된다. 서열 · 구조 비교로 미지 단백질과의 homology를 비교하고, 그 미지 기능을 이용하여 분자 · 생리 기능에 관한 정보를 얻을

수 있다. 미지 단백질과의 homology가 발견되지 않는 경우에도 입체구조가 알려져 있으면, docking·시뮬레이션(어떤 분자가 어느 부위에 결합하는지 계산으로 알 수 있다)⁸⁾으로 다양한 분자 기능과 그 메커니즘을 추정할 수 있다. 이것은 이후 활성화될 합리적 약제 조제(structure-based drug design)의 방법이기도 하다. 그림 3에 homology에 기반한 구조 예측과 미지복합체 구조에 기반한 docking 예측을 종합하여 분자 기능 메커니즘을 추정하였다⁹⁾.

■ 결론

현재 생명을 구성하는 요소(서열·입체구조), 요소간의 관계(분자간 상호작용), 각 요소가 속하는 계(분자계·세포·조직 등)에 대한 자료가 축적되고 있으며, 이를 토대로한 단백질의 구조·기능·진화에 대한 깊은 이해가 필요하다. 또한 이들 요소에 대한 정보는 각종 세포나 대사·발주·분화·면역·신경 등 다양한 생물학계의 동작 메커니즘을 구성적·정량적으로 이해하는 데 중요하게 작용할 것이다.

【참고문헌】

- 1) Sali A: *Nat Struc Biol*(1998) **5**: 1029-1032
- 2) Burley SK, et al: *Nat Genet*(1999) **23**: 151-157
- 3) Yokoyama S, et al: *Nat Struct Biol*(2000) **7**: 943-945
- 4) Kigawa T, et al: *J Biomol NMR*(1995) **6**: 129-134
- 5) Murzin AG, et al: *J Mol Biol*(1995) **247**: 536-540
- 6) Orengo CA, et al: *Structure*(1997) **5**: 1093-1108
- 7) Flaherty KM, et al: *Proc Natl Acad Sci USA*(1991) **88**: 5041-5045
- 8) Dixon JS: *Proteins*(1997) Suppl 1: 205-209
- 9) Matsuo Y, et al: *Protein Sci*(1996) **5**: 2459-2467

계놈의 설계 원리를 본다

Yada Tetsushi/계놈과학종합센터

대규모 Sequencing project 시대를 맞아 계놈의 설계원리를 밝히기 위한 유전자 검색이 주목 받고 있다. 본 고에서는 컴퓨터의 설계 원리를 이용한 유전자 검색에 대해 그 배경과 방법의 신뢰성, 향후 연구 전개 등을 중심으로 설명하고자 한다.

■ 서론

지금은 대규모 Sequencing project 시대로 2000년 6월 계놈 프로젝트의 완료로 인간 계놈 85%에 해당하는 서열이 결정되었다(불과 1년 전에는 전체 서열의 10%도 채 결정하지 못했다). 계놈 프로젝트의 최종 목표는 계놈 서열에서 생물의 설계원리를 이해하는 것이다. 대량의 염기서열 데이터가 결정되어 있는 지금, 다음 목표는 그 염기서열 데이터에 생물학적인 의미를 부여하는 것이다. 그 의미를 부여하기 위해서는 유전자 발견 즉, 단백질을 코드하고 있는 영역을 계놈서열에서 검색해야 한다. 유전자의 발견에는 컴퓨터가 가장 소중하게 작용하며, 본 고에서는 컴퓨터를 이용하여 유전자를 발견하는 방법 즉, 배경, 신뢰성, 유전자 발견연구의 전개 등에 대하여 설명하고자 한다.

■ 유전자 발견방법과 배경

유전자를 발견하기 위한 방법은 크게 3가지로 분류할 수 있다. ① 계놈서열과 전사/번역 서열의 비교를 통한 유전자 발견법, ② 계놈서열과 계놈서열의 비교를 통한 유전자 발견법, ③ 서열비교와 상관없는 유전자 발견법이

다. 이러한 방법에 근거하여 개발된 대표적인 유전자 발견 프로그램을 표 1에 나타내었다.

(1) 계놈서열과 전사/번역 서열의 비교를 통한 유전자 발견법

유전자 중에는 서열은 매우 다르지만 종과 무관하게 공통적으로 존재하는 것이 많다. 또, 계놈서열에는 서로 비슷한 서열을 가진 유전자가 존재한다. 계놈서열과 전사/번역 서열의 비교를 통한 유전자 발견법은 이러한 생물학적인 관점에 근거한 방법으로, 이미 알려진 cDNA 서열이나 아미노산 서열과 유사한 영역이 계놈서열에 존재하면 그 영역에는 이 유전자가 존재한다고 추정하는 것이다. 구체적으로 데이터베이스에 등록되어있는 cDNA 서열이나 아미노산 서열을 한가지씩 골라 계놈서열과 alignment한다. 일반적인 alignment와는 차이점이 있으므로 다음과 같은 점에 유의해야 한다. 먼저 코딩영역의 경계에 존재하는 보존서열(개시/종결 codon이나 splicing 부위)을 충족할 수 있게 alignment 한다. 또한 codon의 3번째 염기의 보존도가 낮거나 intron이 매우 긴 경우는 그 영역을 alignment하기 위해 특별한 치환행렬이나 gap이 필요하다. 계놈서열과 아미노산 서열과의 alignment는 상보가닥을 포함하는 6가지 해석법으로 계놈서열을 아미노산 서열로 변환시켜 alignment 한다.

(2) 계놈서열과 계놈서열의 비교를 통한 유전자 발견법

계놈서열과 계놈서열의 비교를 통한 유전자 발견법은 2가지 생물종의 계놈

표 1 대표적인 유전자 발현 프로그램

대상 생물	프로그램	URL
계놈서열과 전사/해독 서열의 비교를 통한 유전자 발견법		
진핵생물	AAT ¹⁾	http://genome.cs.mtu.edu/aat.html
	aln ²⁾	ftp://ftp.genome.ad.jp/pub/genomenet/saitama-cc/
	est2genome ³⁾	http://www.uk_embnet.org/Software/EMBOSS/Apps/est2genome.html
	PROCRUSTES ⁴⁾	http://www-hto.usc.edu/software/procrustes/wwwserv.html
	sim4 ⁵⁾	http://globin.cse.psu.edu/
계놈서열과 계놈서열의 비교를 통한 유전자 발견법		
진핵생물	GLASS/ROSETTA ⁶⁾	http://plover.lcs.mit.edu/
서열비교와 상관없는 유전자 발견법		
원핵생물	GeneHacker Plus ⁷⁾	http://elmo.ims.u-tokyo.ac.jp/GH/
	GeneMark_hmm ⁸⁾	http://genemark.biology.gatech.edu/GeneMark/
	GLIMMER ⁹⁾	http://www.tigr.org/softlab/glimmer/glimmer.html
진핵생물	FGENESH ¹⁰⁾	http://genomic.sanger.ac.uk/gf/gf.shtml
	Genie ¹¹⁾	http://fruitfly.org/seq_tools/genie.html
	GENSCAN ¹²⁾	http://CCR-081.mit.edu/GENSCAN.html
	HMMgene ¹³⁾	http://www.cbs.dtu.dk/services/HMMgene/
	MZEF ¹⁴⁾	http://argon.cshl.org/genefinder/

* 여기서는 유전자 발현의 배경을 기준으로 프로그램의 해석 대상 생물종으로 프로그램을 분류하고 있다. 표에 나타난 URL의 프로그램을 이용하여 유전자 발현을 검색할 수 있다. 그 중에는 프로그램의 source를 다운로드 할 수 있는 곳도 있다.

서열을 비교하여, 어느 정도 길이에 걸쳐 보존되어 있는 영역이 존재하면, 그 영역을 exon으로 추정하는 것이다. 예를 들면, 인간과 마우스의 계놈에는 유전자 서열이 유사한 synteny 영역이 존재한다. Synteny 영역의 계놈 서열을 비교하면 기능적으로 중요한 영역이 진화과정에서 보존되었음을 알 수 있으며, 이 영역은 exon 영역이다. 구체적으로는 2가지의 계놈서열을 alignment하여 보존영역을 찾아내지만, 이 alignment라도 (1) 계놈서열과 전사/번역 서열의 비교를 통한 유전자 발견법과 같은 주의사항이 고려되어야 한다.

(3) 서열비교와 상관없는 유전자 발견법

서열비교와 상관없는 유전자 발견법은 유전자 서열에 관찰되는 통계적인 특징과 구조적인 제약에 착안하여, 그 특징과 유사하거나 구조적인 제약을 만족할 영역이 계놈 서열에 존재하면 그 영역에 유전자가 존재한다고 추정하는 것이다. 통계적인 특징으로는 개시/종결 codon이나 splicing 부위 등의 codon 영역 경계에 존재하는 보존서열과 그 주변에서 자주 관찰되는 염기, exon이나 intron의 서열길이, coding potential이라 불리는 codon의 출현빈도의 등이 알려져 있다. 이 방법은 유전자내의 coding exon을 조합한 길이가 3의 배수이어야 하며, 인접해 있는 exon 사이의 해석법이 보존되어야 한다는 구조적인 제약이 있다.

■ 유전자 발견법의 신뢰성

유전자 발견법의 신뢰성을 언급하기 전에 신뢰성을 나타내는 2가지를 소개한다. 첫 번째는 감도(sensitivity)로 정확히 예측한 exon(또는 유전자)의 수를 실제 exon(또는 유전자)의 수로 나눈 것이다. 또 한가지는 특이성

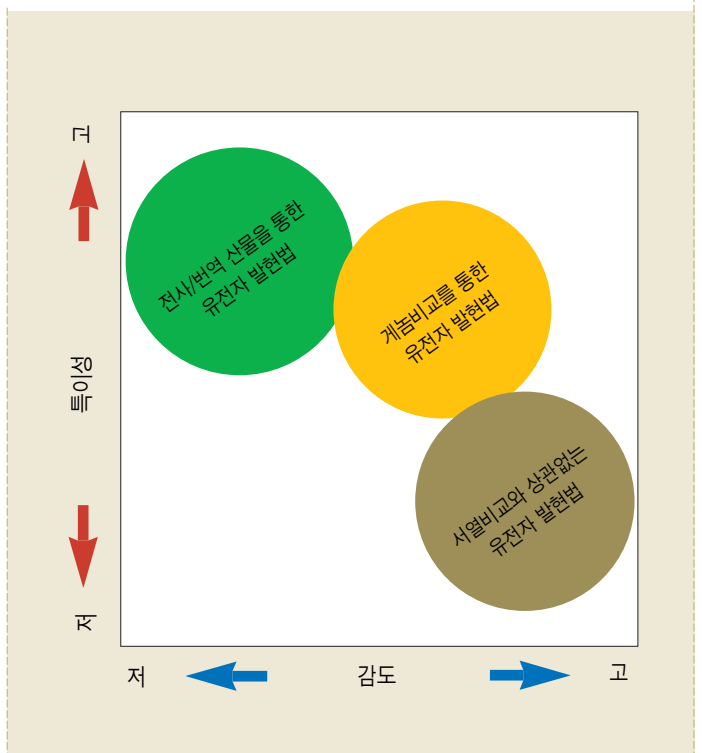


그림 1 유전자 발견법의 신뢰성
여기서는 감도와 특이성을 기준으로 유전자 발견법의 신뢰성을 평가하고 있다. 보다 자세한 설명은 본문을 참조한다.

(specificity)으로 정확히 예측한 exon(또는 유전자)의 수를 유전자 발견법에 따라 예측한 exon(또는 유전자)의 수로 나눈 것이다. 즉, 감도는 실제 exon(또는 유전자)의 어느 정도를 유전자 발견법으로 정확히 예측하였는가를 나타내고, 특이성은 유전자 발견법이 어느 정도 exon(또는 유전자)을 예측하지 않았는가를 나타낸다. 감도와 특이성 둘 다 높은 것이 신뢰성이 높은 방법이다.

그림 1에 유전자 발견법의 신뢰성을 나타내고 있다. 게놈 서열과 전사/번역 서열의 비교를 통한 유전자 발견법은 기지의 유전자와 서열을 비교하므로 매우 높은 특이성을 갖는다. 그러나 지금까지 밝혀진 유전자는 그 일부에 불과하므로 어떤 방법을 동원하더라도 감도는 낮다.

1990년대 중반에 활발했던 cDNA 프로젝트로 인한 데이터가 많이 증가할 것으로 기대했지만, 분리가 가능한 cDNA는 유전자의 발현량이나 발현시기 등의 제약이 많아 그 감도를 실용 수준까지 올리는 것은 불가능하다.

서열비교와 상관없는 유전자 발견법은 기지의 유전자 서열 자체를 따르지 않고, 거기에서 산출된 통계량을 이용하므로 매우 높은 감도를 나타내는 방법으로 알려져 있다. 그러나, 지금까지 사용된 통계량만으로는 게놈서열에서 많이 관찰되는 pseudo 코드영역을 실제 코드영역과 완전히 구별할 수 없어 어떤 방법을 동원하더라도 특이성이 낮아진다.

현재에도 새로운 방법을 찾기위한 노력과 발견과 이 방법을 이용하기 위한 연구가 꾸준히 이루어지고 있지만, 본질적으로는 전사/번역에 관한 지식이 있어야 하며, 단시간에 비약적인 특이성의 개선은 기대할 수 없다.

한편 게놈서열과 게놈서열의 비교를 통한 유전자 발견법은, 최근 몇년 동안의 대규모 sequencing 시대를 배경으로 하나의 게놈단위도 서열비교해석이 가능하게 되어, 처음으로 실현된 새로운 방법이다. 이 방법은 기초가 되는 생물학적 자료가 매우 많으므로 높은 특이성을 나타내는 방법으로 알려져 있다. 또한, 인간과 마우스의 게놈서열 비교에서는 인간에게 특이적인 유전자를 검출할 수 없지만, 인간과 마우스에 공통적으로 존재하는 유전자는 검출할 수 있었다. 이 방법은 서열과 전사/번역서열의 비교를 통한 유전자발견법으로는 불가능한 실용적인 감도를 실현한 것이다.

■ 결론

향후 점점 더 많은 생물종간의 게놈서열이 결정되기 때문에 실용적인 유전자 발견법은 게놈서열과 게놈서열의 비교를 통한 방법을 중심으로 다른 방법으로 보완한다면 비약적으로 진보할 수 있을 것이다. 그러면, 유전자발견법의 연구에 중지부를 찍을 수 있을 것인가? 이것을 생각하여 매우 시시적인 연구를 소개하기로 한다.

야마나카와 나카이는 splicing 부위에서 발생한 돌연변이에 의한 splicing

pattern 변화 데이터를 수집·정리한 데이터 베이스를 개발하였다. 이런 야생형의 서열데이터를 서열비교와 상관없는 유전자 발견법으로 해석한 결과, 80%의 감도로 exon 영역을 정확하게 예측할 수 있었다. 그러나 변이형 서열 데이터를 해석한 결과 정확하게 30%의 exon 영역밖에 예측할 수 없었다. 감도의 급격한 저하의 원인은 무엇일까? 이것은 현재의 유전자발현방법이 전사/번역 과정을 추정하지 않았기 때문이다. 즉, 신뢰성을 높이기 위하여 전사/번역에 관여하는 분자라고 볼 수 없는 coding potential 등의 콘텐츠 정보를 이용하고 있기 때문이다.

Splicing pattern을 보다 정밀하게 예측하는 것은 전사/번역에 관련하는 분자를 확인하거나 보존서열이나 signal 정보를 이용한 유전자 발현 coding법 연구에 필수적이다. 이런 의미에서 기초학문으로서 유전자 발현 연구는 향후에도 계속 되어야 할 것이다. 이 연구에 근거하여 개발된 유전자 발견법은 전사/해독의 과정을 게놈 서열에 근거해 추정하는 것이고, 그 방법에는 게놈 서열의 설계 원리가 포함되어있다.

【참고문헌】

- 1) Huang X, et al: *Genomics*(1997) **46**: 37-45
- 2) Gotoh O: *Bioinformatics*(2000) **16**: 190-202
- 3) Mott R: *Bioinformatics*(1997) **13**: 477-478
- 4) Gelfand MS, et al: *Proc Natl Acad Sci USA*(1996) **93**: 9061-9066
- 5) Florea L, et al: *Genome Res*(1998) **8**: 967-974
- 6) Batzoglou S, et al: *Genome Res*(2000) **10**: 950-958
- 7) Yada T, et al: *DNA Res*(1996) **3**: 355-361
- 8) Lukashin A, et al: *Nucleic Acids Res*(1998) **26**: 1107-1115
- 9) Delcher AL, et al: *Nucleic Acids Res*(1999) **27**: 4636-4641
- 10) Salamov AA, et al: *Genome Res*(2000) **10**: 516-522
- 11) Reese MG, et al: *Genome Res*(2000) **10**: 529-538
- 12) Burge C, et al: *J Mol Biol*(1997) **268**: 78-94
- 13) Krogh A: *Genome Res*(2000) **10**: 523-528
- 14) Zhang MQ: *Proc Natl Acad Sci USA*(1997) **94**: 565-568
- 15) 矢田哲士: 유전(2000) **54**: 63-68
- 16) 矢田哲士: 생물물리(2000) **40**: 25-30