

From Proteomics To Protein-chip

- related with research & development of protein-chip -

세포 내 유전자의 기능을 완전하게 이해하기 위해서는 Genomics에서 접근할 수 없는 유전자 발현 이후의 최종적으로 완성된 단백질의 생리적 변화를 분석할 수 있는 새로운 영역의 필요성이 최근 들어 대두되기 시작하였는데, 그 개념은 1994년 Italy Sienna에서 열린 2D-PAGE학회에서 Wilkins등에 의해 처음으로 소개되었다. 이후 세계적으로 활발한 Proteome(Proteins expressed by a genome)관련 연구들이 진행되어 많은 유용한 결과들이 보고되고 있으며, 단일 단백질 또는 단백질 복합체의 동정(Identification) 및 정량분석, 생물학적 외란(Perturbation)에 의한 단백질의 발현양상(Expression profiling) 변화, 단백질 기능 및 상호작용 특성 규명(Characterization), 그리고 단백질과 질병간의 연결고리 규명 등에 관한 것을 주요 연구영역으로 하고 있다.

DNA 증폭기술(Polymerase Chain Reaction: PCR)이 Genomics부문에서 지놈 구조의 해석을 돕는 혁신적인 기술이었는데 반해, 유전자 연구에 비해서 분리 및 정제문제의 어려움을 겪던 단백질 연구는 2차원 전기영동(2D Gel Electrophoresis)기술과 MALDI-MS(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry)분석 기술의 발달을 계기로 대량효능 검색기능을 확보함으로써 연구의 토대를 마련하였다. 그러나, 미량 단백질의 효율적인 발굴, 분석이 아직까지도 어려운 실정이고, 실험의 재현성이 부족하여 많은 노동력을 요하는 단점이 존재한다. Proteome연구분야의 궁극적 목표가 질병의 발생원인, 진행상태 및 생리적인 변화정도 등에 대한 대량의 정보를 얻는 것에 있다고 하면, 상기 제시된 단점은 Proteomics분야에서 반드시 극복하여야 할 과제이고, 기술적 한계를 극복하기 위한 여러 연구들이 아직도 많이 필요한 실정이다.

그 중 단백질칩(Protein-Chip)은 유리와 같은 고형체 표면에 단백질을 고밀도로 집적시켜 만드는 것으로서, 현대의 분자생물학적 지식에 신호 검출을 위한 기반기술, 소형화 휴대화 기술 및 전자공학관련기술을 접목하고, 전자의 MEMS 기술 등을 이용하여 수십에서 수만개의 서로 다른 단백질 리간드(Ligand)를 도입하여 동시에 여러 단백질을 검색할 수 있는 기능을 가지고 있다.

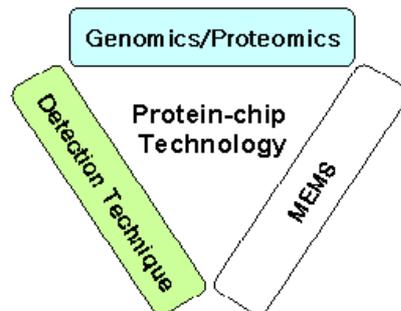


Fig. 1. Protein-chip관련 기술 및 산업화 분야

상기 제시된 필요성에 따라, 수많은 단백질의 기능을 동시에 분석할 수 있는 단백질 칩이 개발되었음이 미국 하버드 대학의 Stuart L. Schreiber 박사와 Gavin MacBeath 박사의 연구팀에 의해 2000년 9월 8일자 Science지에 보고되었다.

하버드 대학의 연구팀은 자동화된 로봇을 이용하여 현미경 슬라이드에 10,000 종류 이상의 단백질을 미세한 점으로 배치한 단백질 칩을 개발하였다. 단백질 칩 제조에 가장 중요한 기술은 칩 형성과정 중에서 각 단백질의 기능이 손상되지 않은 상태로 고형체 표면에 고정시키는 기술인데, 그들은 유리판에 고정된 단백질들이 다른 단백질이나 화학물질들과 상호작용을 하는 활성을 잃지 않았음을 확인할 수 있었다. 이번 연구에 사용된 로봇은 이전에 스탠포드 대학의 Patrick O.

Brown 박사에 의해 개발된 것으로서 유리판에 단백질 용액을 머리카락 굵기의 작은 점으로 가할 수 있다. 또한 유리판은 알데히드 화합물로 입혀져 있어 단백질이 공유결합으로 고정될 수 있도록 하였다.

그들은 이렇게 만들어진 칩에 형광으로 표시한 단백질들을 가하여 고정된 단백질들이 제대로 반응하는지 실험해보았다. 그 결과, 형광으로 표시한 단백질들은 원래 상호작용을 하던 단백질이 고정된 지점에 결합함으로써 칩에 고정된 단백질들이 활성을 지니고 있음을 보여주었다.

두 번째로 그들은 고정된 단백질들이 원래의 효소활성을 유지하고 있는지 확인하기 위해 키나아제 효소의 기질을 단백질 칩에 가하였다. 여기에서 기질은 방사성 물질로 표시하여 쉽게 추적할 수 있도록 하였다. 그들은 이 두 번째 실험에서도 칩에 고정된 단백질들이 효소 활성을 유지하고 있는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 기술은 신약을 개발하거나 단백질의 기능을 분석하는데 매우 중요한 기술이다. 현재 DNA 칩이 개발되어 점차적으로 그 사용이 확산되어가고 있지만 한 세포의 특성은 궁극적으로는 단백질에 의해 결정되어진다는 점을 고려한다면 단백질 칩이 갖는 중요성은 매우 크다고 할 수 있다.