

단백질칩의 연구 동향

1990년부터 시작된 genome project의 진전에 힘입어 최근 인간유전자의 구조가 대부분 밝혀지면서 인체를 구성하는 유전자의 기능연구에 대한 관심이 급증하고 있다. 유전자는 단백질을 발현해 세포내에서 그 기능을 수행하기 때문에 게놈의 기능연구는 단백질에 대한 연구로 귀결되며, 최근 proteomics라는 새로운 연구분야가 국내외적으로 많은 관심을 불러 일으키고 있다. Proteomics는 genome에 의해 발현되는 모든 단백질들의 총합을 일컫는 proteome을 다루는 학문으로, 어떤 단백질이, 얼마의 양으로, 어떤 환경에서 발현되는 가를 파악하는 것을 목적으로 한다. 생명체의 genome이 생명체가 수행하는 기능의 이론적인 면만을 제시할 수 있음에 반해, proteome은 세포가 처해있는 환경에 따라 세포의 실제적인 기능을 표현해 준다. 이러한 이유로 급속한 속도로 밝혀지고 있는 미지의 유전자들의 기능을 밝혀내고자 하는 functional genomics의 한부분으로 새롭게 부각되고 있고, 세포 내에서 일어나는 실제적인 현상들을 전체 단백질 단계에서 통합적으로 파악하는 수단으로 제공된다. 이러한 proteomics 연구에 필수적으로 이용될 수 있는 핵심기술이 단백질 칩이며, 이는 수십 ~ 수백 개의 단백질을 작은 칩 상에 고정해 동시다발적으로 단백질의 결합을 분석하는 자동화 기기 시스템이다. 이는 질병의 진단, 단백질의 발현 및 기능연구, 단백질의 상호작용 연구, 신약개발 등 다양한 응용분야를 가지고 있어 의학, 약학, 생명과학분야에서 광범위하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

단백질 칩은 크게 센서칩 부분과 단백질 결합 분석장치 부분으로 구성되어 있으며, 핵심기술로 목적 단백질과 선택적으로 결합할 수 있는 수용체 선별기술, 단백질 고정화기술, 그리고 단백질 결합 분석기술로 나눌 수 있다. 우선적으로 센서칩 부분을 소개하면 다음과 같다.

미지의 시료로부터 특정 단백질의 실체를 파악하기 위해서는 목적단백질과 선택적으로 결합할 수 있는 수용체가 필요한데 그 중 대표적으로 사용되는 것이 항원-항체의 특이선택적 반응을 나타내는 단일클론항체이다. 단일클론항체는 많은 질병을 진단하고 치료하는 데 사용되는 순수하고 균일하며 감도가 높은 항체로서 독일의 면역학자 퀴러와 밀슈타인에 의해 생산기술이 개발되었다. 쥐와 같은 동물에 대상항원을 주입하여 항원에 특이성을 가진 항체 생산세포를 생산하고, 쥐의 경우, 비장(spleen)을 제거하고 현탁하여 임파세포(lymphocyte)를 얻는다. 생산된 임파세포와 골수종세포(myeloma cell)의 융합을 polyethylene glycol 첨가에 의해 유도하고, Selection 과정을 거쳐 임파세포의 항체생산 능력과 골수종세포의 무한 증식능력을 가진 순수한 하이브리도마(hybridoma) 세포가 생성한 후 증식과정을 거쳐 단일 항체를 생산한다. 그러나, 특정 단백질에 선택적인 결합능을 가진 단일클론항체는 그 자체만으로는 정성 및 정량분석을 위한 물리량으로 변환될 수 있는 자체적인 능력을 소유하고 있지 않다. 항원-항체반응에서 발생하는 물리, 화학적 변화를 효율적으로 신호전달체계로 전달하기 위해서는 첫째, 일정한 영역내에서 항원과 수용체의 결합반응이 일어나야 하고, 둘째, 결합반응이 발생하는 영역과 신호전달장치의 거리의 최소화가 선행되어야 한다. 이는 반응영역과 신호전달장치의 거리가 멀면 멀수록, 노이즈(Noise)의 개입 가능성이 증가하기 때문이다. 셋째로는 특정 영역에서 발생하는 결합반응성을 최적화하는 방안이 모색되어야 한다. 이와 같은 요구조건을 충족시키기 위해서는 단백질 수용체를 고정기판 위에 활성화 방향성을 유지시키면서 부착시키는 기술, 즉 고정화(Immobilization) 기법이 도입되어야 하며, 대표적으로 Langmuir-Blodgett(LB) 기법과 Self-Assembly 기법을 들 수 있다. 여기에는

일반적으로 thiol 결합이나 avidin-biotin 결합이 이용되기도 하고, 수용체와 센서칩 표면과의 친수성, 소수성, 이온교환성 성질이 이용되며, 수용체(항체)와 고체기판사이에 polylysine과 같은 중간 매개체를 이용하기도 한다.

최근에는 목적 단백질의 수용체(항체)와 특이적 결합력이 있는 단백질을 활성을 유지한 채 일정한 방향성을 가질 수 있도록 유전자 재조합 기법을 이용하여 변형시켜 고체표면에 부착시킴으로써 수용체(항체)를 효과적으로 고정화하는 방법이 소개되기도 하였다. Staphylococcal protein A는 IgG와 특이적 결합력을 가지는 단백질로서 각각 약 58 아미노산 잔기로 구성된 다섯 부분의 IgG 결합 영역(E, D, A, B, C)을 가지고 있다. 이 중 B영역의 C-terminal부분에 gold 표면과 특이적 결합력을 가지는 -SH 기능을 포함하고 있는 아미노산인 cysteine을 유전자 재조합 기법을 이용하여 삽입시킴으로써 단백질 수용체(항체)와 결합 특이성을 유지한 채 gold표면에 방향성 있게 부착시킬 수 있는 재조합 단백질을 생산하였다. 이를 항체(IgG)를 고체표면에 고정화시키기 위한 중간 매개체로서 사용하였다.

단백질 수용체를 고체기판 위에 활성과 방향성을 유지시키면서 효과적으로 부착시키는 고정화 기술의 개발은 향후 단백질 칩 개발에 있어서 필수적인 요구되는 핵심기술로서 계속적으로 연구되어야 할 분야이다.