

<Mining the Genome(C & EN, Oct. 14, 47(2002)>

지노믹스로부터의 생물학적 정보는 방대한 정보들을 제공할 것이다. 2001년 이전에는 약 440개의 알려진 유전자들이 있었고, 거의 6,000개의 약물 성분들이 있었다. 인간 지놈의 염기서열을 분석함에 따라 현재는 비록 그들의 기능들이 완전히 밝혀지지는 않았지만 30,000~40,000개의 유전자들이 알려져 있다. 이러한 추가적으로 알려진 유전자들은 방대한 약물발견을 만들어 낼 가능성이 많은 것이다.

미국의 한 제약회사의 간부는 “새로운 지놈의 정보를 이용한 약물발견의 범위”를 Human Genome Project(HGP)나 다른 최근의 지놈 연구들에 의해 얻어진 정보를 이용하는 약물발견 방법 및 도구들을 포함한다고 정의했다.

지노믹스 서열 데이터(genome sequencing data)에 의해 제안된 수 만의 인간 유전자들은 단순히 한 유전자가 한 개의 산물을 발현시키는 과정이기 보다는 훨씬 더 많은 유전자 산물들(단백질들)을 만들어 낸다. 이는 RNA transcript의 splicing의 다양성, 번역후 수식(post-translational modification)에 의해 생성된 차이점, 그리고 그 밖의 다른 요인들 때문으로 알려져 있다. 그래서 전사체(transcriptome: 세포내 모든 mRNA transcript를 말함)의 크기는 잘 알려져 있지 않다.

너무 많은 단백질들이 생산되고, 이들 모두가 약물이 될 수 있는 것은 아니기 때문에 초기에 각각의 target에 대해 타당성을 확립하는 것이 매우 중요하다. 이러한 과정을 검정(target validation)이라 부른다.

적절한 검정에 실패하면 문제가 발생하는데, 예를들면 PTEN(Phosphatase and Tensin homolog deleted on chromosome Ten), 즉 인슐린 signaling의 negative regulator인 lipid phosphatase는 아마 당뇨병 조절을 가능하게 할지도 모른다. 이러한 예는 대사질환 치료를 위한 좋은 약물이 될 수 있을 것 같아 보인다. 그러나 PTEN의 기능 지노믹스(functional genomics)를 연구하면, 이것은 p53과 관계된 암 억제제라는 것을 알 수 있고 따라서 암유전자(oncogene)로서도 작용할 수 있다. 그래서 초기에 잠재적인 약물 target의 기능을 결정하고 그들의 생물학적 pathway를 확립함으로써 모든 가능한 부작용들을 확인하는 것이 매우 중요하다.

검정이나 기능 지노믹스를 위한 한가지 방법은 안티센스 기술(antisense technology)이다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 특정한 방법으로 mRNA 단편에 상보적으로 설계된 약 20개의 뉴클레오티드로 이루어져 있다. 안티센스 분자가 mRNA에 결합하면 mRNA에 의한 단백질의 번역을 방해하여 mRNA로 전사했던 유전자의 발현을 저해한다. 그래서 유전자가 작동하지 않음으로서 생기는 기능적인 영향들을 연구할 수 있다. 검정 또한 RNA interference(RNAi)로 연구할 수 있는데, 여기서 RNA duplex는 homologous mRNAs의 분해를 유발하는데 이용된다.

안티센스 올리고뉴클레오티드와 interfering RNAs의 장점은 유전자 target을 검정하는데 유용할 뿐만 아니라 그러한 target들에 대한 잠재적인 약물들이 될 수 있다. 그래서 치료제의 검정과 확인은 때때로 동시에 이루어질 수 있다.

Isis Pharmaceuticals, GeneTrove의 기능 지노믹스부의 부사장은 회사의 연구자들이 복잡한 질환들에 관련된 핵심 유전자들을 약물발견을 위한 잠재적인 target들로서 빠르고 효율적으로 확인하기 위해 어떻게 안티센스 올리고뉴클레오티드를 이용하는지 설명하고 있다. 기능 지노믹스부는 GeneTrove Antisense Inhibitor Library를 개발하고 있는데, 이것은 수

천개의 유전자 산물들에 대해 선택적이고 잠재적인 안티센스 저해제들에 대한 정보를 포함하게 될 것이다. 이 library는 다양한 세포내 pathway들과 과정들에 관련된 중요한 유전자들을 빠르게 확인하는데 이용될 것이다.

이 연구팀은 특정한 유전자들의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하고, 처리된 세포들을 잠재적으로 활용할 수 있는 범위에서 기능적으로 변화시켜 시험하는데, 이는 혈관신생(angiogenesis), 종양학, 대사질환, 염증등에 응용이 가능하다. 목적은 세포내의 네트워크들과 signaling pathway들을 확인하는 것을 돕거나, 잠재적인 약물들의 target들로서 유전자들을 검정하는 것이다. 미래의 몇 년 동안에 걸쳐 GeneTrove의 연구자들의 목표는 10,000 유전자들에 대한 안티센스 억제제들을 규명하는 것이다.

안티센스 연구에서 얻은 데이터들은 GeneTrove의 Human Gene Function Database에 수집되며, 또한 Isis의 약물발견을 위해 이용된다. 안티센스 library와 유전자 기능 데이터베이스는 둘 다 상업적으로 구입 가능하다.

검정과 기능 지노믹스를 위한 또 다른 방법은 작은 유기 분자들을 이용하는 것인데, 즉 조합화학(combinatorial chemistry)을 이용한 접근이 있다. 이것은 실제로 타당하고 질환에 영향을 줄 수 있을만한 새로운 target들을 찾을 수 있게 하는데 매우 중요한 접근이다. 조합화학 기술들은 점차로 의약화학을 위한 중요한 도구가 되어가고 있으며 약물의 빠른 발견과 최적화를 유도한다.

Exelixis Pharmaceutical의 연구팀은 그들의 검정 연구에 과실파리나 회충 같은 생물체를 이용한다. 때때로 이러한 작은 생물체에서 인간의 target과 밀접하게 관계가 있는 target을 찾을 수 있다.

화학 library들의 High Throughput Screening(HTS)은 일부 그러한 target들에 결합하는 성분들을 찾는데 사용될 수 있다. 그러나 일부 화학자들은 화학 library들에서 너무 일반화된 화학적 다양성을 얻으려고 지나치게 강조하는 경우가 있고, 또한 이미 알려진 잠재적인 활성을 갖는 분자 구조들을 토대로 한 성분들을 갖는 library에는 선입견을 갖고 등한시 하는 경우가 있다. 사실은 아주 미묘한 변화를 통해 분자들을 만들 수 있고 이러한 성분들의 활성을 크게 바꿀 수 있다. 예를들면 미국 California의 Berlex Biosciences의 연구팀은 4-hydroxypiperidine에 단일 methylene group을 첨가해 chemokine receptor CCR1의 비효율적인 저해제(5  $\mu$ M의 농도로 50% 이하의 저해를 함)를 훨씬 높은 활성을 갖는 성분(40 nM의 농도로 50% 저해를 함)으로 변화시켰다(J. Med. Chem., 42, 4680(1999)).

일반적으로 비슷한 성분들은 비슷한 활성들을 갖는다고 말하지만, 이러한 예는 2개의 비슷한 성분들이 확실히 다른 활성들을 갖는 것을 보여준다. 만약 스크리닝 library에 이러한 성분들 중 1개만을 갖고 있다면 잠재적인 구조를 갖는 다른 성분을 찾을 기회를 50%는 잃는 것이다. 그러므로 성분의 수집에 있어서 많은 다양성을 찾는 것이 중요하며, 또한 활성을 보여주는 한 성분을 찾았을 때 비슷한 구조들을 갖는 성분들을 확립하는 것도 중요하다. 이것은 library중에 활성이 있는 물질을 찾아내고, 지노믹스로부터 나타나는 일부 중요한 target들에 대하여 최적화할 수 있는 가능성이 높아진다.

유망한 약물 target들을 확인하는 또 다른 방법은 systems biology에 의한 방법이다. Systems biology는 생물 분자들이 생물학적 기능들을 수행하기 위해 어떠한 방법으로 함께 작용하는지를 이해하기 위하여 생물분자들을 동시에 조합시켜 연구하는 학문이다. Systems biology는 종종 신호전달(signal transmission)이나 다른 일괄적인 기능(collective function)들을 수행하는 "modules"라 불리는 생물 분자들의 결합을 세부적으로

밝혀내는데 초점을 맞추고 있다. 미국 시애틀의 Institute for Systems Biology의 유전학자와 컴퓨터 생물학자(computational biologist)로 이루어진 연구팀은 그러한 modules의 모델을 확립하고 처리하는 방법들을 개발하고 있다. 최근의 연구에서 연구자들은 yeast를 병원균의 형태로의 전환을 제어하는 yeast의 신호전달망(signal transduction network)의 modular structure의 모델을 확립하기 위하여 컴퓨터 기술을 이용하였다. 다양한 곰팡이들은 2가지 형태로 존재하는데, 하나는 기본적으로 해롭지 않은 yeast 형태이다. 그러나 이들이 인간이나 옥수수 알등의 숙주 조직들과 접촉할 때 사상체 모양(filamentous)의 침략적인 병원균의 형태로 바뀐다. 이 연구팀이 분석했던 network는 이러한 반응을 제어하는 것이다. 이들은 또한 사상체 모양으로의 전환을 제어하는 신호망의 모델을 확립하기 위하여 유전자 발현, 단백질 기능 및 단백질의 상호작용들에 대한 데이터를 결합시켰다. 수백개의 유전자들의 network로 시작하여 약 10개의 modules를 확인하였고 그들이 서로 어떻게 연관성이 있는지 결정하였다. 따라서 이러한 정보를 이용하여 시스템의 반응을 교란시킬 수 있다. 즉 시스템을 화학적으로 조정하기 위해 이러한 modular network model을 확립하는 것이다.

module사이의 연관성은 network들에서 정보의 흐름에 대한 중요한 핵심이다. Institute for Systems Biology의 연구팀은 module로부터 Mpt5라 불리는 단백질을 제거하여 그러한 연관성들 중의 하나를 없애고, 기능적인 영향을 분석할 수 있었다. 이것은 module들을 찾고 그들의 연관성들이 network에서 조정을 하는데 유용한지에 대한 실험이다. 이러한 접근의 장점들은 생물학적 시스템에 대한 전체적인 시야를 제공하는 능력을 포함하는데, 여기에서 module substructure, pathways, 다른 module들간의 연관성을 나타낸다. 이것은 새로운 module들의 발견을 용이하게 하고, 생물학적 시스템을 효율적이고 전략적인 방법으로 교란시키기 위해 핵심적인 방법들에 의해 약물발견을 위한 안내자 역할을 한다.

미국 일리노이주의 Abbott Lab.의 생물 스크리닝부 연구팀은 유용할 것 같지 않은 성분들과 target들을 확인하고 이들을 친화성을 토대로 한 스크리닝(affinity-based screening) 연구에서 확인된 library들에서 고려하지 않음으로서 약물발견을 최적화한다. 이 연구팀의 연구자들은 효소들과 같은 질환에 관계된 생물학적 target들에 결합하는 성분들을 스크리닝하기 위해 mass spectrometry detection(ASMS)을 가지고 affinity 선별을 한다. 작은 분자의 약물 후보자들을 단백질 target과 섞어, 이들이 결합하는지를 검색하기 위하여 MS를 사용한다. 새롭고 잠재성 있는 저해제들이 이러한 방법에 의해 발견되어 왔다. 그러나 그러한 스크리닝 연구들에 의해 확인된 성분 library는 비선택적으로 target들에 결합하는 불필요한 성분들 때문에 비효율적인 경향이 있다. 그리고 그러한 연구들에 사용될 수 있는 단백질들의 일부는 실제로 좋은 약물 target들이 아니다. 이 연구팀은 지노믹스로부터 얻은 수많은 잠재적인 target들을 갖고 있고, 산업적인 면에서도 잠재적인 수많은 성분들을 갖고 있다. 여기에 효율적인 스크리닝 기술을 결합하면 스크리닝하는 많은 target들에 대해 좋은 결과를 얻을 수 있을 것이다. 그래서 스크리닝 연구에 있어서 바람직하지 않은 성분들과 target들을 고려하지 않도록 배제하는 기준을 갖는 실험적으로 얻은 데이터베이스를 개발했다. 이러한 불필요한 성분을 가려내는 기술을 갖고 가장 좋은 target들과 성분들에 초점을 맞출 수 있다.

이 기술은 하나의 불필요한 target, 즉 serum albumin을 좋지 않은 target의 대용물로 이용하여 갖고 있는 모든 성분들을 스크리닝하는 것을 포함한다. 갖고 있는 성분들의 약 30%가 albumin에 결합한다. 이러한 성분들은 미심쩍은 성분들로 흥미가 없는 성분들이다. 그리고 전형적인 library에 남아있는 성분들(약 70%)은 좀 더 가치가 있는 잠재적인 성분들이

다. 그래서 여과 기술은 연구자들로 하여금 성분들이 필요한 또는 불필요한 성분들인지를 분류할 수 있도록 해준다. 어떠한 약물발견의 전략에 있어서 궁극적으로 target에 선택적으로 결합하여 활성을 저해하기를 원한다. 더구나 70%의 성분들이 결합하는 단백질들은 더욱 흥미있는 target들이다. 기능이 알려져 있지 않은 target을 찾아내더라도 albumin에 결합하는 30%의 성분들이 결합한다면, 이는 별로 흥미없는 target이 된다. 그러한 target들은 기본적으로 혼란스럽기만 하고 약물이 되지 않을 것으로 생각된다. 이러한 target들에는 비특정적인 성분들이 결합하기 때문에 특정적으로 결합하는 성분들을 찾는다는 것은 쉽지 않은 일이다.

최근의 한 스크리닝 연구에서 연구자들은 DNA polymerase "processivity" target에 결합하는 676개의 성분들을 찾았다. 그러나 불필요한 성분들을 골라낸 후에는 55개만이 남았다. 92%의 성분들이 albumin에 결합하기 때문에 불필요한 성분으로 판정되었다. 이러한 결과가 의미하는 것은 target의 기능조차 알 필요도 없이 약물이 될 수 없다. 이러한 예로서 단백질은 비효율적인 target으로 알려져 있다. 이것은 DNA를 비특정적으로 인지하기 위해 설계된 단백질이다. 미국 Northwestern대학 화학과 Scoichet교수 연구팀은 최근의 연구에서 많은 결합 성분들에 대한 메카니즘을 알아내었는데, 이러한 성분들은 단백질들의 특정한 부위들에 결합하기 보다는 오히려 비특정적으로 그들의 활성을 방해하는 집합체를 형성함에 의해 단백질들을 저해할 수 있음을 보여준다(J. Med. Chem., 45, 1712(2002)). 이 연구에서는 수십 개의 성분들의 작용에 관해서만 연구하였다. 그러나 Abbott에서는 현재 약 70,000개의 성분들에 관해 연구하고 있으며, 이들의 일부는 Scoichet교수 연구팀이 발견한 메카니즘과 같은 방식으로 작용할지도 모르지만 다른 메카니즘에 의해 작용할 수도 있다.

여과되는 불필요한 성분이 좀 더 좋은 안내 역할을 해주었고 어떤 target이 더 중요한 지를 알 수 있다. 이것이 일반적으로 응용이 될 수 있기 때문에 연구자들이 스크리닝을 위해 affinity 기술을 이용하는 다른 지노믹스 및 프로테오믹스 프로젝트들에서 이용할 수 있는 잠재성이 매우 크다.

샌프란시스코의 Celera Genomics의 연구팀은 가치있는 단백질 target들을 확인하기 위하여 화학적 활성을 토대로 한 affinity probe들을 사용하고 있다. 이 성분들은 오직 활성 상태의 효소들과 작용하는데 비활성 상태이거나 저해제들과 결합된 효소들과는 작용하지 않는다. 그리고 효소의 활성이 높을수록 반응의 범위는 커진다.

각각의 작은 분자 반응물은 미리 fluorescent group과 같은 검색될 수 있는 tag에 유도된다. 그래서 그것이 단백질 분해효소와 같은 효소에 결합한 후에 tag되어 분광학적으로 검색될 수 있다. Celera의 연구자들은 단백질 분해효소들이 활성화 되고 질환의 상태로 과잉 표현되는 것을 확인하기 위하여 이러한 방법을 사용하고 있다. 예를들면 샌프란시스코의 캘리포니아대학 생화학과 Douglas Hanahan교수 연구팀과의 공동연구에서 췌장암(pancreatic cancer)을 갖는 쥐 모델에서 종양에 관련된 protease들의 증가된 발현을 연구하기 위하여 활성을 토대로 한 affinity probe들을 사용했다.

동물세포들을 종양세포, 면역체계 염증세포(immune-system inflammatory cell), 혈관내피세포(endothelial cell)등의 형태로 분류함으로써 종양세포보다는 오히려 염증세포로부터 온 종양과 관계된 많은 단백질 분해효소의 활성을 찾아내었다. 이러한 발견은 암에서 단백질 분해효소의 역할에 관한 기존의 연구들과 일치하는 것이다.

작은 분자들을 단백질들에 label하기 위해 사용하는 개념은 새로운 것은 아니다. 새로운 부분은 다른 형태의 tag들을 특정한 단백질 분해효소 시스템에 응용하는 것이다. 이러한 분

야에 대해서는 많은 연구가 이루어져 있지 않다. 캘리포니아 La Jolla의 ActivXBiosciences라 불리는 새로운 회사는 이와 비슷한 연구에 전문적인데, 이는 활성을 토대로 한 프로테오믹스의 새로운 시대가 오고 있음을 알려준다.

그러므로 활성을 토대로 한 affinity probe들은 연구자들이 새로운 약물을 발견할 수 있도록 하는 가치있는 정보에 관련된 지능을 발굴하기 위해 이용하는 중요한 기술로 도약하고 있다. 약물발견의 미래는 이러한 노력들에 달려있다.