

집파리(*Musca domestica*)의 AChE를 이용한 살충제 High Throughput Screening (HTS) 기술 확립

이경아, 송철, 신욱균, 조광연

한국화학연구소 농약활성연구팀

지금까지 신농약 개발을 위한 신물질의 합성 방법은 이미 효과가 알려진 구조를 중심으로 “me too approach”에 의한 방법으로서 약제개발을 전제로 한 활성확인에 역점을 두었으며, 이들에 대한 생물검정 방법 또한 이러한 용도에 맞게 *in vivo* 스크리닝 기술을 개발하여 사용해왔다. 그러나 최근에는 조합화학 (Combinatorial Chemistry, CCS)의 발달, 분자생물학 및 유전자조작 기술의 개발, 컴퓨터시스템의 발전 등으로 인하여 새로운 신물질 합성법이 도입되고 있으며 또, 새로운 리드화합물을 효율적으로 탐색하기 위하여 앞으로 이 방법이 합성의 주축이 될 전망이다. 그러므로 합성 시스템에 맞는 *in vitro* 스크리닝의 기술 개발이 시급하며, 적은 양의 화합물로도 신속하게 검정할 수 있는 고효율 대량 약효검색을 위한 HTS (High Throughput Screening) 시스템 개발이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 집파리로부터 추출한 AChE를 이용하여 96 well plate 상에서 한 번에 대량으로 활성검정을 수행할 수 있는 스크리닝 검색시스템을 개발하고자 시도하였다. 0.01M sodium phosphate buffer (pH 7.5)에 기질로는 ASChI를 사용하였고, 412 nm에서 spectrophotometer 측정을 위한 발색시약으로 DTNB를 사용하였으며, inhibitor들을 녹이기 위한 solvent로는 acetone과 methanol을 선발하여 사용하였다. 이것들을 종합하여 AChE의 선택적 저해제인 eserine을 비롯한 14종의 유기인계 및 6종의 carbamate계 살충제들에 대한 저해도를 측정하여 살충제 스크리닝을 위한 기술 확립의 발판을 마련하였다. 기존의 살충제 스크리닝 방법과 HTS방법 비교시 기존에는 일상적으로 40여개의 화합물에 대해 스크리닝을 수행할 수 있었지만, HTS의 경우 ELISA reader를 통하여 일상적으로 하루 수행 가능한 화합물수가 약 300~400개였으며, 검정 기간은 최소 24~48시간인데 반해 40분이 소요되었다. 또, 실험에 필요한 약량은 기존의 방법이 최소 10 mg인데 반해 HTS를 적용할 경우 약 30 μ g의 매우 적은 약량으로도 AChE의 활성 조사가 가능하였다.