

일본 뇌염 바이러스에 대한 펩타이드 백신 후보군 도출: 생물정보학 데이터베이스를 활용한 접근법

Selection of Peptide Vaccine Candidates against Japanese Encephalitis Virus: Approach Using Bioinformatics Database

박수지, 엄효지, 최재원, 김학용
충북대학교

Park Suji, Eom Hyoji, Choi Jae-Won, Kim Hak Yong
Chungbuk National University

요약

일본 뇌염 바이러스(Japanese encephalitis virus)는 작은빨간집모기(Culex spp.)를 매개로 사람에게 감염될 수 있으며, 인체에 치명적인 질병을 유발한다. 일본 뇌염 바이러스의 혈청형(serotype)은 1종류이지만, 유전형(genotype)은 5종류(GI, GII, GIII, GIV, GV)로 분류되고 있다. 현재 일본 뇌염 바이러스 백신은 아시아 지역에서 감염 빈도가 높은 유전형 3(GIII)에 대한 백신이며, 사백신(inactivated vaccine)과 약독화 백신(attenuated vaccine)이 주로 사용되고 있다. 본 연구에서는 기존 백신의 부작용을 줄이고 한계점을 개선하기 위하여, 생물정보학 데이터베이스를 활용한 접근법을 통해 펩타이드 백신 후보군을 선별하였다. 5가지의 유전형 중에서도 감염 빈도가 가장 높은 유전형 3(GIII) 및 최근 감염빈도가 서서히 늘어나고 있어 주의가 요구되고 있는 유전형 1(GI)을 연구 대상으로 선정하였다. 여러 종류의 생물정보학 데이터베이스를 활용하여 백신으로 활용가치가 높은 것으로 보고되고 있는 외피 단백질(envelope protein)에 대한 아미노산 상동성을 분석하고, 이를 바탕으로 공통 적용이 가능한 동시에 면역원성이 높은 펩타이드 3종을 백신 후보군으로 선별하였다. 더 나아가 이들의 3차원 구조 모델링을 통해 보다 백신으로 활용 가능성이 높은 펩타이드를 최종 도출하였다.

I. 서론

일본 뇌염 바이러스(Japanese encephalitis virus, JEV)는 주로 아시아 지역에서 발생하는 것으로 알려져 있다. 이 바이러스에 감염되면 발열, 구토, 두통과 같은 증상이 나타나는 것으로 알려져 있다. 심한 경우에는 뇌염, 경련 등을 유발하며, 세계보건기구에 의하면 매년 17,000명이 일본 뇌염 바이러스에 의해 사망하는 것으로 보고되고 있다.

현재 전 세계에서 사용되고 있는 일본 뇌염 백신은 일본 뇌염 바이러스의 5가지 유전형 중에서도 가장 감염 빈도가 높은 유전형 3(GIII)에 대한 백신이며, 사백신과 약독화 백신이 이용되고 있다[1]. 하지만 이 백신들은 접종 후 감각과민, 발열, 발진, 근육통, 복통, 두통, 피부반점 등과 같은 부작용이 나타날 수 있어 더 안전하면서 효과적인 백신 개발의 중요성이 대두되고 있다.

일본 뇌염 바이러스의 5가지 유전형 중에서 대다수가 유전형 3에 의한 감염이었으나, 최근 유전형 1(GI)에 대한 발생빈도가 증가하고 있는 것으로 보고되고 있기 때문에 [2], 유전형 3 뿐만 아니라 유전형 1에도 공통 적용이 가능한 백신 개발의 필요성이 대두되고 있는 상황이다. 따라서 본 논문에서는 위의 한계를 극복할 수 있는 펩타이드 백신을 생물정보학적 접근에 따라 도출하고자 한다.

II. 본론

1. 연구 대상 선정

펩타이드 공통 백신 후보군 도출을 위한 연구 대상은 유전형 3과 유전형 1로 하였으며, 여러 균주들 중에서도 상대적으로 한국, 중국, 일본에서 감염 빈도가 높은 균주를 선정하였다(표 1).

표 1. 본 연구에서 사용된 일본 뇌염 바이러스의 정보

| 유전형 | 균주명 | 발생국가 | 비고 |
|------|----------|-------|-----------|
| GIII | SA-14 | China | 상용화 백신 균주 |
| | Nakayama | Japan | 상용화 백신 균주 |
| | K87P39 | Korea | - |
| GI | K93A07 | Korea | - |
| | K94P05 | Korea | - |

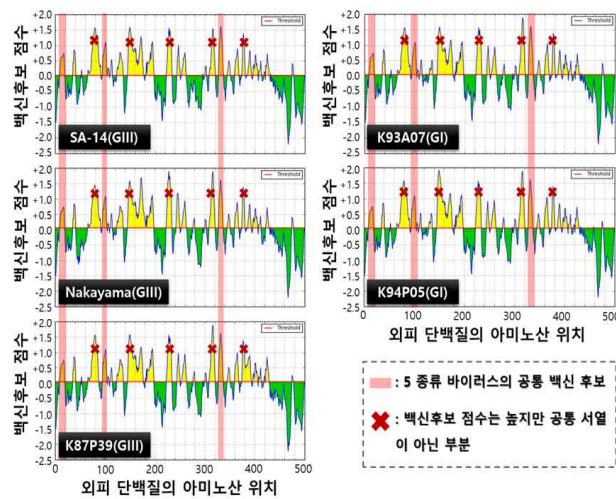
일본 뇌염 바이러스는 3종류의 구조 단백질과 7종류의 비구조 단백질로 구성되어 있다. 이 중에서 구조 단백질 중 하나인 외피 단백질(envelope protein)은 바이러스가 숙주세포 내로 진입하기 위해 융합되는 과정에 필수적인 단백질로, 일본 뇌염 바이러스가 속하는 플라비바이러스(flavivirus)에 대한 중화 항체(neutralization antibody) 개발을 위한 단백질로 연구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 펩타이드 백신 후보군 도출을 위한 단백질로 외피

단백질을 선정하였다.

2. 연구 방법 및 연구 결과

바이러스별 외피 단백질에 대한 아미노산 서열 정보는 NCBI(National Center for Biotechnology Information) 데이터베이스로부터 얻었으며, 각 바이러스를 구성하는 외피 단백질에 대한 아미노산은 UniProt(The Universal Protein Resource) 데이터베이스를 활용하여 다중 서열 분석(multiple sequence alignment)을 수행하였다. 이로부터 연구대상인 5종류의 일본 뇌염 바이러스를 구성하는 외피 단백질 내에서 동일한 아미노산으로 구성된 펩타이드를 선별하였다. 또한 백신으로 활용을 위해 면역 반응을 일으키기에 충분한 10개 이상의 아미노산으로 이루어진 펩타이드들에 대해 심층 분석하였다. 각각의 펩타이드에 대한 면역원성을 확인하기 위해 IEDB(Immune Epitope Database and Analysis Resource) 데이터베이스를 통해 백신후보 점수를 예측하였다. 이때, 백신후보 점수는 높지만 5종류의 바이러스에서 아미노산 서열에 차이가 있어 공통 백신으로 적용이 불가능한 5가지의 펩타이드를 제외하여 최종 펩타이드 백신 후보 3종을 선별하였다(그림1)11표2).

선별된 3가지 펩타이드 백신 후보 중에서 실제 임상실험에 적용했을 경우 가능성이 높은 후보를 도출하기 위해 펩타이드 구조 예측을 위한 분석도구인 PEP-FOLD 3.5 데이터베이스를 이용하여 3차원 구조를 모델링하였다.

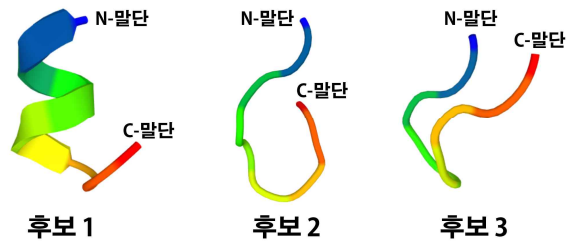


▶▶ 그림 1. 일본 뇌염 바이러스 외피 단백질에 대한 백신후보 점수 분석 및 공통 적용 가능한 펩타이드 분석

표 2. 일본 뇌염 바이러스 유전형 3 및 유전형 1 동시 적용을 위한 펩타이드 백신 후보

| 번호 | 아미노산 서열 | 외피 단백질 내 위치 및 길이 |
|----|-------------------|------------------|
| 1 | N'-RDFIEGASGAT-C' | 9번-19번 (11) |
| 2 | N'-GFTDRGWGNG-C' | 95번-104번 (10) |
| 3 | N'-YSGSDGPCKI-C' | 328번-337번 (10) |

후보 1의 경우 3차원 구조를 이루기 때문에, 후보 2 및 후보 3에 비해 생체 내에서 상대적으로 면역반응을 유발시킬 가능성이 높을 것으로 예측했다(그림 2). 따라서 일본 뇌염 바이러스의 외피 단백질을 구성하는 아미노산 서열 중, N'-RDFIEGASGAT-C'(후보 1) 펩타이드를 일본 뇌염 바이러스 유전형 3 및 유전형 1에 적용 가능한 펩타이드 백신 후보로 도출하였다.



▶▶ 그림 2. 일본 뇌염 바이러스에 대한 펩타이드 백신 후보의 3차원 구조 모델링

III. 결론

현재까지 개발된 일본 뇌염 바이러스 백신들은 모두 바이러스 자체를 약독화나 불활성화 과정을 거쳐 생산되었기 때문에, 인체에 투여되었을 경우 부작용이 나타날 수 있다. 또한 현재 백신은 유전형 3만 대상으로 하기 때문에, 최근 들어 유행하고 있는 유전형 1에 대한 효과는 미지수이다. 따라서 본 연구에서는 위의 한계점을 극복하기 위해, 생물정보학 데이터베이스를 종합적으로 활용하여 일본 뇌염 바이러스를 구성하는 단백질 단편으로부터 유전형 3 및 유전형 1에 동시 적용 가능한 펩타이드 백신 후보군을 도출하였다. 이는 향후 일본 뇌염 백신 개발에 있어 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

■ 참고 문헌 ■

[1] Hegde, N.R and Gore, M.M., "Japanese encephalitis vaccines: Immunogenicity, protective efficacy, effectiveness, and impact on the burden of disease," Hum. Vaccin. Immunother., Vol. 13, No. 6, pp. 1320-1337, 2017

[2] Fernandez, E. et al, "Mouse and human monoclonal antibodies protect against infection by multiple genotypes of Japanese encephalitis virus," MBio, Vol. 9, No. 1, e00008-18, 2018

[3] Yun, S.M. et al., "Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus circulating in South Korea," Virol. J., Vol. 7, pp. 127-133, 2010