

## 특집

## 식품기능성 단백질 및 펩타이드

권 대 영  
이화학연구부

## 1. 단백질의 기능

현재 바이러스(virus)로 부터 사람에게 이르기까지의 생물체의 생체구성물질은 크게 넷으로 나눌 수 있다. 즉 탄수화물(carbohydrates), 지방(lipids), 단백질(proteins) 및 핵산(nucleic acid)으로 나눌 수 있다. 이 중 단백질과 핵산만이 생체 기능성에 관여한다. 핵산은 그 안정성과 고분자로 된 다양성 때문에 유전정보를 갖는 물질이다. 반면 단백질은 핵산이나 다른 물질에 비하여 불안정하나 고분자성이며 구조의 다양성 때문에 생체내 기능성물질로 대표되고 있다. 물론 몇몇 기능을 갖는 당과 지방질이 생체내에서 중요한 역할을 하지만 핵산이나 단백질과 같은 유전정보물질, 효소역할, 결합리셉터(binding receptor)와 같은 공통적인 기능을 담당하는 점에서 다르다. 단백질의 기능성으로 대표되는 것이 효소활성(enzyme activity)이며, 효소저해제(inhibitor), 효소촉진제(activator), 호르몬(hormon)과 그리고 소화되어 영양분으로 가는 영양제(nutrient)로서의 역할이다. 영양성분으로 많이 이용되는 부분은 생체구성 물질로 대부분 근육단백질이다. 어떤 동물의 근육도 미오신(myosin), 액틴(actin), 트로포닌(troponin) 등으로 대략 비슷하게 구성되어 있다. 어쨌든 생물체내에

서 성장, 대사, 생식, 느낌, 운동에 모두 관여하는 것이 단백질 뿐이다.

영양학적인 측면에서만 볼 때, 단백질의 기본단위인 아미노산(amino acids)만 신체조성과 필수적으로 필요한 아미노산밸런스(amino acid balance)를 유지하여 섭취한다면 문제가 전혀 없다. 그러나 과학이 발달함에 따라 아미노산 레벨의 차원이 아니라, 펩타이드레벨(peptide level) 또는 단백질 차원에서의 기능성이 인체의 생리기능에 크게 영향을 미치는 것으로 알려졌다. 또한 펩타이드 차원 또는 단백질 차원에서 볼 때 단순히 구성성분에서 또는 1차구조만 같으면 같은 기능을 나타낸다고 볼 수도 없다. 왜냐하면 단백질의 기능성은 1차구조 뿐만아니라, 2차, 3차, 4차구조에 따라 너무나도 차이가 나기 때문이다. 따라서 단백질 유래의 생리활성 펩타이드를 알아내고(peptide motif) 개발하여도 독단적으로는 그 생리활성을 나타내지 않는 경우도 많다. 그러므로 생리활성 펩타이드를 개발하는 것은 매우 어렵고 힘든 작업이다.

## 2. 생리활성 모티프(motif) (생리활성 펩타이드)

단백질의 정제법과 단백질의 아미노산 배열순서

결정법의 발달로 단백질의 1차구조(아미노산 배열 순서, amino acid sequence) 분석이 가능해지고 더 나아가서 NMR(핵자기공명법, nuclear magnetic resonance)법과 x-선결정회절분석법(x-ray crystallography)에 의하여 단백질의 3차구조가 분석이 가능해짐에 따라 단백질의 효소반응부위, inhibitor나 리셉터(인식기능) 등 리간드결합부위(ligand binding site)의 위치가 알려졌다. 또한 성장인자(growth factor, hormon)를 구성하고 있는 단백질(insulin 등)이나 펩타이드의 구조를 정확히 알에 따라 여러가지 생리활성 기능부위(motif)의 위치와 구조를 알 수 있게 되었다.

지금까지 기능단위구조(peptide motif)로서 subunit, domain, module 등의 명칭이 알려지고 있지만, motif는 더욱 작은 기능단위로서 아미노산 3-6개 및 7개 정도의 펩타이드 배열을 말하며, 이와 같은 motif의 존재가 어떤 단백질의 기능이나 세포내의 편재성 및 조절을 지배하는 것으로 알려졌다. 옛부터 motif로 잘 알려진 바로는 단백질 분해 효소의 활성중심(active site, serine protease의 경우는 catalytic triad)의 아미노산 배열과 이에 대응하는 inhibitor등의 리간드의 결합부위 중심(inhibitor의 경우 저해활성 중심)이 있다. 표1에 나타난 바와 같이 일반적인 형태의 많은 기능 motif가 존재하는 것으로 알려졌다.

RGD로 나타내는 트리펩타이드(tripeptide motif)는 콜라겐(collagen), 피브로넥틴(fibronectin, surface protein의 일종) 또는 여러종의 세포막 접착단백질(fibrinogen) 등의 세포간 접착분자로 알려진 접착시그널 펩타이드다. 즉 이들 단백질의 RGD motif는 세포측의 receptor인 인테그린(integrin)과 접착성을 갖는 motif이다. 더욱 중요한 것은 단백질 형태의 폴리펩타이드(polypeptide)를 구성하고 있는 형태가 아닌 유리펩타이드 형태도 *in vivo*에서 세포간의 접착을 억제한다는 사실 즉 트리펩타이드가 기능을 갖고 있다는 사실이다.

따라서 세포막에 관여하는 정보전달이나 물질의

표 1. 대표적인 생리활성 펩타이드 motif의 예

세포내에서 생리활성 기능	peptide motif
Cell attachment	RGD
ER(endoplasmic reticulum) recognition	KDEL
Membrane anchoring	WSXWS
Nuclear translocation	SPKK
Lysosome recognition	KFERQ
PEST hypothesis	PEST
N end rule	F, L, D, K, R
Angiotension converting enzyme	FQP, PVM, VAF

\* 여기서 아미노산의 표시를 한글자약어(one letter abbreviation)으로 표시하였다. 즉 Ala, A; Gly, G; Ser, S; Val, V; Cys, C; Met, M; His, H; Leu, L; Pro, P; Thr, T; Arg, R; Tyr, Y; Phe, F; Asp, D; Glu, E; Trp, W; Lys, K; Asn, N; Gln, Q; Ile, I and X is is not fixed amino acid.

전달 이동에 실제로 어떠한 기능을 할 가능성이 있는 식품단백질의 소화 흡수에 관련지어 소장 상피간의 접착에 관여하는 데스모솜(desmosome)이나 tight junction에 대한 조사가 필요하다.(다음 펩타이드 흡수 참조).

KDEL로 표시되는 테트라펩타이드(tetrapeptide) motif는 C-말단에 ER(endoplasmic reticulum)의 인식기능이 있다. 글루타민산 수용체단백질(glutamate receptor protein)의 변이단백질(mutant protein) 실험에서 단순히 KDEL의 하나 아미노산을 바꾸어도 ER 인식기능이 전혀 없어진다. 중요한 것은 단지 4개의 아미노산으로 밖에 안된 펩타이드배열이 그 100배 또는 그 이상의 단백질 폴리펩타이드의 행동을 결정하는 것으로 알려졌다.

동시에 SPKK 테트라펩타이드배열은 핵내에 있는 단백질의 nuclear translocation의 시그널 전달 역할을 담당하고 있는 것으로 유전자 발현억제에

관하여 흥미있는 펩타이드로 기대된다. WSXWS의 배열은 interleukin II 및 erythropoethin과 같은 hematopoethin 수용체로 분류되는 막단백질에 공통으로 존재하며 막관통정도를 결정한다. 그 이외에 KFERQ 및 PEST motif은 단백질의 수명에 관계가 깊으며, 특히 여러 암발생단백질 (oncogenic protein)로 판명되었다.

### 3. 기능성 펩타이드의 종류와 기능

이와같이 단백질의 중요한 특성과 기능이 motif와 같은 작은 펩타이드 배열에 의하여 결정된다는 사실이 단백질의 1차구조 (primary sequence)를 비교함으로써 판명되었다. 물론 단백질의 입체구조상 이러한 펩타이드 motif는 단백질의 어느 위치에 있느냐가 또한 매우 중요하다. 따라서 저분자펩타이드의 기능성과 단백질의 3차구조와의 관계도 매우 중요하다. 그러나 단백질의 입체구조를 떠나 이러한 펩타이드 부분만으로서도 기능을 갖고 있는 경우가 많다. 이 사실은 또한 저분자 펩타이드 구조와 기능 연구의 필요성을 나타내고 있다. 표 2에 저분자 생리활성 펩타이드와 그 기능성에 대하여 나타냈다.

이 중에서 카제인 펩타이드에서 분리한  $\beta$ -casomorphin의 Tyr-Pro-Phe-Pro-NH<sub>2</sub>은 최초로 opioid receptor peptide로 밝혀졌으며, 테트라펩타이드 중 Gly-Gln-Pro-Arg는 탐식작용 (phagocytosis)의 촉진펩타이드 (stimulator peptides)로 잘 알려져있다. ACE (angiotensin converting enzyme peptides)는 혈압상승 물질인 angiotensin의 혈압강하물질인 bradykinin의 분해를 촉진하는 효소이어서 이 효소에 대한 저해물질은 혈압강하 작용으로 나타난다. 한국식품개발연구원에서도 ACE에 대한 연구가 한창 진행 중이다.

다만 이들 펩타이드 모두가 이러한 기능을 하는 중요한 펩타이드지만 이들이 단독 즉 트리펩타이드나 테트라펩타이드로 유리되었을 때도 똑같은 기능을 갖느냐에 대하여는 아직도 논란이 많으므로 앞

으로 더욱 깊은 연구가 필요하다. 분명한 사실은 자연상태에서 이들 펩타이드 motif는 분명한 생리활성 기능을 갖고 있지만 단순히 이들 펩타이드 배열은 꼭 똑같은 기능을 갖고 있다고 볼 수 없다. 여기에 대한 주된 요인으로는 펩타이드나 단백질의 folding구조가 다르기 때문으로 분석되고 있으나 많은 식품과학자들은 단백질의 folding 구조에는 잘 모르는 사람이 많아서 무조건 이들 펩타이드를 개발하기만 하면 자연상태의 기능이 그대로 유지된다고 생각한다. (다음장 단백질의 folding 구조와의 관계 참조)

또한 특히 이러한 테트라펩타이드까지 한정하여 단백질을 고려할 때 소장의 막흡수 및 endocytosis 후 프로테아제 (protease)의 분해작용을 생각하지 않을 수 없다. (다음장 막흡수 참조) 더군다나 이러한 프로테아제의 작용을 생각하지 않더라도 이들 단백질이나 펩타이드의 막흡수 후 folding구조가 그대로 유지된다고 볼 수가 없다. 따라서 단백질이나 펩타이드의 구조와 folding 및 3차구조의 안정성이 펩타이드 기능 및 활성에 관한 연구가 매우 중요하다.

이러한 논란에도 불구하고 이러한 기능성 펩타이드에 대한 관심은 꾸준히 증가되어왔고 따라서 많은 기능성펩타이드가 개발되어왔다. 물론 folding 구조에 관하여는 연구가 되어 있지 않지만 몇가지 식품유래의 중요한 단백질이나 생리활성 펩타이드를 표3에 나타냈다.

Visible (현재적) 생리활성펩타이드는 그 자체로 생리활성기능을 갖는 펩타이드로 고분자의 홀몬류 및 효소의 inhibitor가 이에 해당하며, latent (잠재적) 생리활성펩타이드는 원래는 생리활성 펩타이드로 생각되지 않던 단백질에서 파생 유래된 펩타이드를 말한다.

Opioid 펩타이드로 대표되는 엔돌핀 (endorphin)은 뇌, 뇌하수체, 갑상선수질, 장 혈액에서 진통, 마취, 평활근의 수축에 관여한다. 최근엔 opiates가 항암작용을 함이 보고되고 있다. 따라서 이런 opioid 펩타이드도 실제로 항암작용을 하는지

표 2. 저분자 생리활성 펩타이드와 기능성

펩타이드	기 능 및 명 칭
Dipeptide	
Tyr-Arg	Kyotorphin
Ile-Tyr	Angitensin converting enzyme inhibiting peptides
Ac-Asp-Glu	Affinity for glutamate receptor
Pyr-His-Gly	Anaeroxicogenic peptides
Pyr-his-Pro-NH <sub>2</sub>	Prolacting releasing hormone
Z-Gly-Phe	Masking into cells
Leu-leu-OMe	Imunosuppressor
Tripeptide	
Gly-His-Lys	Liver cell growth factor
Arg-Gly-Asp	Cell attachment peptides
Gly-Gly-His	Cu-binding peptides
Gly-Pro-Arg	Inhibition of fibrin polymerization
Ile-Ser-Lys	Diprotein A, inhibitor of DAP IV
Thr-Ser-Lys	Pineal antireproductive peptides
Leu-Val-Leu	ACE inhibitor peptides in plasma
Met-Phe-Met	Chemotatic peptides
Thr-Val-Leu	Schizophrenia related peptides
Z-D-Phe-Phe-Gly	Virus replication inhibitor
For-Met-Leu-Phe	Chemotatic peptides
Pro-Leu-Gly-NH <sub>2</sub>	$\alpha$ -MS releasing inhibition hormone
Lys-His-Gly-NH <sub>2</sub>	B-cell differentiation hormone
Tetrapeptide	
Thr-Pro-Arg-Lys	Contraceptive peptides
Thr-Lys-Pro-Arg	Tuftsins
Gly-Gln-Pro-Arg	Phagocytosis stimulator
Tyr-Pro-Trp-Thr	Hemorphinnic peptides
Lys-Lys-Gly-Glu	Melanotropin potentiator
Lys-Asp-Glu-Leu	Marker peptides for ER
Tyr-Pro-Phe-Thr	Cytomorphin
Tyr-Pro-Phe-Pro-NH <sub>2</sub>	Opiates receptor, $\beta$ -casomorphin
Phe-Met-Arg-Phe-NH <sub>2</sub>	Cardioexitatory neuropeptide
Trp-Met-Asp-Phe-NH <sub>2</sub>	Cholecystokinin
Pyr-Gly-Asp-Ser-Gly	Epidermal mitosis inhibitor

표 3. 식품 단백질 유래 펩타이드 및 그 생리활성 기능

펩타이드 종류	구 조	기 원 및 작 용
<b>Visible 생리활성 펩타이드</b>		
상피세포 성장인자	NSDSECPLSH...	사람의 젖
세포증식인자(BALB/C #T3)	AVPYPQR, EGP, TRH등	우유( $\beta$ -casein)
Protease inhibitor	Serpin	동식물
Amylase inhibitor		동식물
<b>Latent 생리활성 펩타이드</b>		
<b>Opioid peptide(agonist)</b>		
$\beta$ -Casomorphin	YPFPG(60-64)	$\beta$ -casein(우유):
Morphiceptin	YFPF-NH <sub>2</sub> (60-63)	$\beta$ -casein(우유)
$\alpha$ -Lactorphin	YGLF-NH <sub>2</sub>	$\alpha$ -lactoalbumin(모유 및 우유)
Exorphin	RYLGYLG GYYPPT	$\beta$ -casein(우유) gluten : insulin 분비 촉진
<b>Opioid peptide(antagonist)</b>		
Casoxin	SRYPST-OCH <sub>3</sub> YPYY	$\kappa$ -casein(우유) : 항 opioid 장관연동 촉진
Casoxin C	YIPIQYVLSR	$\kappa$ -casein(우유) : 탐식작용
Casoxin D	YVPFPPF	$\alpha_{S1}$ -casein : 동맥이완, 혈압강하
Lactoferroxin	YLGSGY-OCH <sub>3</sub>	lactoferin(모유)
Oryzatensin	GYPMYPLPR	rice protein
<b>Phagocytosis 촉진펩타이드</b>		
	PGPIP, VEPIPY LLY, GEL GLF	$\beta$ -casein(우유) $\alpha_{S1}$ -casein
Albutensin	ALKAWAVAR	serumalbumin(모유) : 동맥이완
Tuftsins	TKPR	immunoglobulin
Ovokinin	FRADHPFL HCQRPR	egg white albumin : 동맥이완 11S soy globulin : 항체생산
<b>ACE 저해펩타이드</b>		
	LKY VAF, LLF, SRYL PVM, LKPNM, FQP IYY YRILEF, FVIPAGY	muscle lactoferin 정어리 근육 보리글리텐 soy protein
Celiac 유도펩타이드	PSQQQP, QQPYPQ	보리글리아딘
면역부활펩타이드	VEPIPY	casein
DNA 합성촉진 펩타이드	AVPYPQR	$\beta$ -casein(모유)

연구가 필요하다. 한편, antagonist opioid 펩타이드가 분리되었는데, opioid 활성을 갖지 않으나 opioid receptor에 결합하여 opioid 작용을 저해한다.

또한 최근 식품단백질의 유래 및 생리활성 펩타이드로 예로부터 유명한 글루텐불내증 (celiac disease)의 원인으로 알려진 펩타이드 구조가 *in vitro* 실험에서 밝혀졌다. 이 작은 펩타이드 단위는 PSQQP로 된  $\alpha$ -gliadin의 hexapeptide로 소장 점막상피세포막 및 lysozyme에 어떠한 손상작용을 미쳐 질병을 일으키는 기작으로 추정된다.

이것은 펩타이드가 질병의 원인이 되는 예이지만 식품유래의 여러가지 펩타이드가 생리기능성을 갖는 것으로 볼 때 무엇보다도 실현성이 큰 펩타이드 장내에서 여러가지 반응과 현상에 관여하는 펩타이드로 볼 수 있다.

#### 4. 단백질 및 펩타이드의 folding 구조와 기능성

앞서 언급한 바와 같이 펩타이드나 단백질의 경우는 1차구조만으로 전체 구조가 형성되는 것은 아니다. 단백질의 입체구조를 떠난 펩타이드 motif의 자체의 3차구조 또는 전체적인 단백질 구조상에서의 어느 위치에서의 펩타이드 구조가 생리활성과의 깊은 관계가 있다. 물론 앞서 말한 모든 단백질의 기능성 (단백질 receptor 결합, 효소의 결합, 효소작용)은 단백질의 1차구조 그리고 1차구조에 기인한 3차구조가 결정한다. 더 나아가서 이러한 단백질에 결합하여 단백질의 기능을 조절하는 펩타이드나 단백질도 즉 inhibitor, hormone 등의 경우도 folding 구조가 이들 구조와 관련이 있음을 보여주고 있다.

한 예로 생체내에서 serine protease의 활성을 조절하고 있는 inhibitor  $\alpha_1$ -antitrypsin (serpin: serine protease inhibitor)의 경우, 이 리간드 단백질이 기능을 못하면 프로테아제가 아무 단백질을 분해하기 때문에 elastin도 분해되어 병에 걸리게 된다. 이  $\alpha_1$ -antitrypsin의 여러가지 포인트 mu-

tant 단백질을 만들어 실험한 결과 리간드 단백질의 folding이 잘 안되는 경우 프로테아제의 기능을 조절하지 못함을 확인하였다 (유명희, Nature; structural biology 1995).

따라서 다만 이들 펩타이드 모두가 이러한 기능을 하는 중요한 펩타이드지만 이들이 단독 즉 트리펩타이드나 테트라펩타이드로 유리되었을 때도 똑같은 기능을 갖느냐에 대하여는 당연한 의문이 생긴다. 이에 대하여 아직도 논란이 많으므로 앞으로 저분자 펩타이드 1차 또는 3차 구조와 기능과의 관계에 대하여 더욱 깊은 연구가 필요하다. 물론 단백질의 입체구조를 떠나 이러한 펩타이드 부분만으로서도 기능을 갖고 있는 경우가 적지는 않다.

한편으로는 위와 같은 기능성 펩타이드를 탐색 개발하고 다른 한편으로는 이들의 기능성이 유지되도록 구조 안정성과 folding 구조안에서의 펩타이드의 구조를 연구하여야 한다.

더 나아가서 다음에 나오는 막흡수 후의 folding 구조 연구도 필수적이라고 본다.

#### 5. 펩타이드의 흡수기작

원래의 펩타이드가 갖는 생리활성도 중요하지만 장내에서 단백질이나 펩타이드의 흡수수송 등의 문제도 매우 중요하다. 앞에서 언급한 바와 같이 단백질에는 수 많은 생리활성 펩타이드가 존재하는 것과 그들 배열 중에는 단백질 구조 중에 있어서도 유리 저분자 펩타이드 형태에 있는 것과 똑같은 기능을 나타내는 것이 있고, 소화관내의 프로테아제에 의하여 유리될 때만이 또는 단백질 중의 folding 구조안에 있을 때 이러한 펩타이드 기능을 나타내는 것이 있다. 그러나 단백질이 식품으로 섭취 될 때에 이러한 펩타이드가 기능을 하느냐 안하느냐에 대하여는 이들 펩타이드가 장내에서 혈중 또는 체액중 어느 기구에 흡수 수송되고 있는지에 대한 측면에서 이야기되고 있다. 따라서 소장에서 펩타이드 흡수, 대사에 관한 연구 현황을 언급하고자 한다.

단백질이 입 또는 위를 통하여 소장에 투여되면

문맥속의 혈중 아미노산 농도가 상승되는 것을 알 수 있다. 따라서 단백질은 입과 위에서 작은 창자에 이르는 소화관 내에서 아미노산까지 분해된다고 생각할 수 있다. 그러나 사람이나 쥐에게 단백질을 투여한 후 소장의 내용물을 분석하여 보면 저분자량 펩타이드가 어느 정도 존재하는 것이 밝혀지고 있으며 식품단백질의 소장내에서 최종 분해산물은 대부분 dipeptide 또는 tripeptide를 포함하고 있다고 알려지고 있다. 최근 HPLC에서 분리 분획하여 아미노산배열결정법이 초미량으로도 가능하게 되어 이러한 사실이 밝혀지고 있다.

단적인 예로 어느 단백질과 그 아미노산 조성이 똑 같은 아미노산 혼합물이 영양학적으로 같지 않다는 사실을 질소 출납법으로 분석한 결과 밝혀졌다. 또한 쥐의 소장을 사용하여 dipeptide 즉 Gly-Gly가 장막측에서 또 한개의 장혈관에서 검출되고 있음을 보여주고 있다. 그러나 검출된 Gly-Gly는 미량으로 계속해서 5종의 디펩타이드를 사용한 실험에서는 점막측에서의 펩타이드의 없어지는 정도가 장막측에 있는 아미노산보다 훨씬 빠르다. 이는 점막측에서 펩타이드의 존재와 수송이 훨씬 빠름을 의미한다.

또한 Gly-Gly-Gly와 Gly-Gly를 투여한 경우와

Gly를 단독으로 경구투여한 경우 혈중에서의 Gly의 농도를 측정된 결과 흡수속도 흡수량이 트리펩타이드, 디펩타이드 유리아미노산 순으로 나타났다. 또한 쥐에 Ala-Val과 Ala 와 Val을 단독으로 투여한 실험에서도 역시 펩타이드의 경우에서 흡수가 훨씬 빨랐다. 한편 casein, 어육단백질, lactalbumin 등 여러 단백질의 경우 단백질 그 자체를 단백질을 가수분해 효소를 처리하여 가수분해물 특히 tetrapeptide까지 분해물을 만들어 사람의 소장내에서 아미노산을 흡수시킨 것과 이들과 똑같은 동일 조성의 아미노산 혼합물을 흡수시킨 것과 비교한 결과에서도 역시 가수분해물 쪽에서 훨씬 빨랐고 흡수된 아미노산도 균등하였다. 이는 아미노산 자체를 흡수시키면 짧은 펩타이드를 만들어 흡수시킨 것보다 느리고 흡수 속도도 아미노산 별로 차이가 남을 실증해 주고 있다.

이상과 같은 현상론적인 연구에 비하여 펩타이드 수송체에 있어서의 해석은 복잡하여 연구가 진전되고 있지 못하였으나 1970년대 중반부터 이를 규명하는 연구가 진행되어 오고 있다. 소장점막 상피세포(그림 1)로 부터 BBMV(brush border membrane vesicle)의 분리법을 개발하여 아미노산, 펩타이드 수송기구를 해석하는 것을 시도하였다.

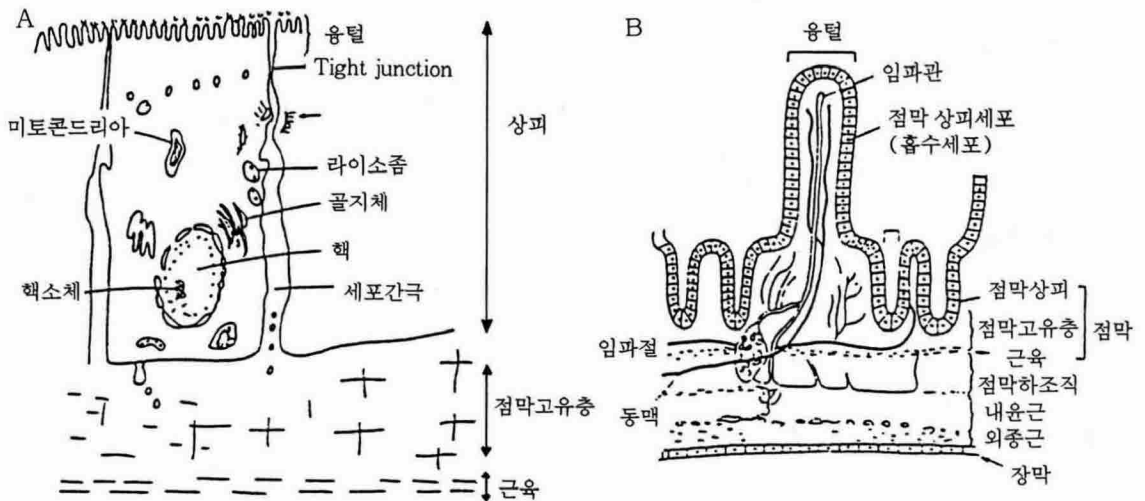


그림 1 점막 상피세포와 소장관의 구조

BBMV를 가지고 Gly-Leu와 Gly-Pro의 수송이 아미노산 수송체와 같은 tetrium 의존성을 보이지 않았다는 사실과 다른 디펩타이드에 의한 inhibition이 일어나는 결과와, 또 tetrium 의존성 아미노산의 저해제인 halmarin에 의하여 저해가 일어나지 않는 결과는 아미노산의 수송체와 펩타이드 수송체가 다르다는 것을 보여주고 있다. 따라서 토끼 BBMV 안팎의 전압차와 barimycin의 존재하에 K 이온에 의하여 촉진되는 것으로 보아 proton 공여수송체의 존재가 있음을 예상할 수 있다.

최근 두꺼비 소장을 이용하여 여러 가지 펩타이드의 proton 수송체의 속도론적인 분석을 연구한 결과 glycyl di-, tripeptide와 alanyl di-, tripeptide는 담체 수송능력을 보여주고 있으나, phenyldipeptide, leucyldipeptide, phenylalanyl-leucine 등 소수성(nonpolar)으로 된 펩타이드는 다른 담체에서 수송을 하고 있음을 보여주고 있다. 마찬가지로 전하(charged) 아미노산으로 된 펩타이드의 수송체는 따로 있을 것으로 본다. 그러나 아직도 아미노산 수송담체와 펩타이드 수송담체의 공존 가능성등 상관관계에 대하여 연구가 많지 않으므로 이에 대한 연구도 필요할 것으로 본다.

따라서 펩타이드 흡수수송체에 대하여 연구가 진행되고 있다. 그러나 디펩타이드, 트리펩타이드가 점막상피세포로 수송되는 것에 대하여는 확실한 것으로 보여지나 그 이후 어떠한 형태로, 어떠한 경로, 어떠한 구조로 수송되는지에 대하여는 앞으로 밝혀내야 할 문제가 많이 남아있다.

## 6. 펩타이드 분리 및 구조분석

단백질을 분리하는 데 널리 유용되는 여러종류의 칼럼과 FPLC (fast protein liquid chromatography)와 Phast electrophoresis system(Pharmacia)을 이용하여 비교적 쉽게 분리하고 분석할 수 있다. 그러나 단백질의 분리는 각각의 단백질마다 다르기 때문에 쉽지는 않다. 다행히도 당연구실에서는 이들 시스템이 갖추어져 있어서 단백질 분

리하는 데 큰 어려움은 없다. 또한 당연구실에는 단백질의 구조 분석을 하기위하여 사용되는 CD-ORD (circular dichroism-optical rotatory dispersion) 분석을 spectropolarimeter (Jasco 710)를 이용하여 단백질의 2차 구조 분석을 구조 변화에 따라 측정할 수 있다.

흔히 펩타이드의 분리와 단백질의 분리는 같은 것으로 생각하고 있다. 그러나 단백질의 경우는 분자량이 크기 때문에 GPC (gel permeation chromatography) 등을 사용하여 분리할 수 있으나 펩타이드는 분자량이 작아 di-, tri-, tetrapeptide내에서 분리하는 것이 쉽지 않다. 특히 디펩타이드와 같이 분자량이 작은 경우는 염과의 분리도 쉽지 않다는 사실을 쉽게 간과하기 쉽다. 실제로 디펩타이드 경우 20<sup>2</sup>의 종류가 있을 수 있다. 따라서 이들을 discrimination 하는 데는 많은 어려움이 따른다. TFA (trifluoroacetic acid)를 이용하여 HPLC에서 분석하면 분리능은 증가되나 한계가 있다. 따라서 용매농도 기울기를 주어서 분획한 다음 isocratic상태에서 rechromatography 하여 분리하기도 하지만 분획은 쉽지 않다. 다행히 당연구실에는 preparative HPLC를 사용하면 많은 양의 펩타이드를 분리할 수 있다.

아직까지 우리나라에서 여러가지 펩타이드의 분리를 시도하고 구조를 분석하는 연구가 많이 되어 있지 않은 이유는 분리의 어려움 때문인 것으로 생각된다. 물론 tetrapeptide 이상의 펩타이드의 분리는 상대적으로 쉽기 때문에 많이 연구되고 있다.

펩타이드의 구조 분석 중 가장 중요한 부분이 1차구조 분석이다. 펩타이드 길이가 그리 크지는 않기 때문에 peptide sequenator를 이용하거나 본 연구실과 같이 수동(manually) 분석이 가능하기도 하다.

## 7. 결 론

암과 같은 성인병의 발생을 증가와 노령화 추세에 따라 건강에 대한 욕구를 충족시키는 기능성 식



품의 수요가 앞으로 급격히 증가할 것으로 예상된다. 이들의 욕구를 가장 먼저 충족 시켜줄 물질이 기능성 펩타이드 및 단백질로 본다. 아직까지 항암, 고혈압 방지 등 성인병예방 기능성에 관련된 펩타이드나 단백질이 밝혀지기 시작하고 있다.

그러나 이러한 중요성에 비추어 단백질 및 펩타이드에 대하여 많은 연구가 진행되지 못하고 있다. 특히 펩타이드의 구조와 기능성에 관한 연구가 부족하여 애써 개발한 펩타이드가 그 효능면에서 문제가 있는 경우가 있다. 따라서 단백질의 구조 분석과 단백질 구조내에서의 motif peptide로서의 구조와 유리 구조의 차이점, 구조변화 등에 관한 연구도 반드시 필요하다.

또한 펩타이드 흡수에 대하여 연구가 많이 필요하다. 단백질, 펩타이드 등 고분자성 물질의 소장막 투과는 이미 알려진 사실이다. 이와같은 고분자 물질의 투과 흡수는 흡수 상피세포의 endocytosis에 의한 흡수와 세포간 간극을 통과하는 흡수로 생각된다. 특히 endocytosis의 경우에서 desmosome

및 tight junction 등의 억제 기작에 대하여서도 앞으로 명확히 밝혀내지 않으면 안된다. (그림 1의 A). 이와같은 root 로 부터의 물질이동 수송은 현재 크게 문제가 되는 장관면역이나 알레르기와 깊은 관련이 있을 것으로 본다. 펩타이드는 생체내에서 다양한 생리기능을 담당하고 있는 반면 항원성이 강한 분자인 장관을 통과하므로 생리기능의 조절, 특히 림파구의 장관면역 (그림 1의 B)의 관점에서도 중요한 연구대상이다.

마지막으로 자연식품이나 천연물에서 생리활성 펩타이드를 탐색하는 데 어려움은 펩타이드 분리의 문제와 그 기능성의 분석에 따른 문제에 기인한다. 물론 강력한 HPLC 을 사용하기도 하지만 그리 쉽지는 않다. 또한 앞으로 생리활성 기능을 쉽고 정확하게 측정할 수 있는 방법의 개선이 필요하며, *in vitro* 결과와 *in vivo*의 결과에서 차이점도 극복해야할 과제이다.

(참고문헌이 필요한 분이나 문의사항이 있으신 분은 저자에게 직접 연락주시기 바랍니다.)