

# Serendipity and Strategy: Paradigm in novel compounds discovery

권 호 정

세종대학교 생명공학과

## 탐색연구의 정신, Serendipity

1928년 영국의 A. Fleming은 실험실에 방치하고 있던 *Staphylococcus aureus*의 평판에서 푸른곰팡이의 일종인 *Penicillium notatum*이 혼입되어 집락을 형성하면서 그 주위에서는 세균의 증식이 저해되는 것을 우연히 관찰하고 이 균이 생산하는 물질이 penicillin이라는 것을 발견하여 인류를 세균감염증의 고통으로부터 구출하였다. 이처럼 각고의 노력 끝에 얻어진 우연한 큰 발견은 근대 과학의 발전에 원동력이 되었으며 이를 서구의 과학자들은 “serendipity”라 표현한다. 본인이 이 단어를 처음 접하였던 때는 일본 동경대학에서 박사과정중 지도 교수님이셨던 Beppu Teruhiko 선생님이 본인의 연구과제인 새로운 세포주기 특이적 저해제의 탐색연구에 대해 말씀을 하시면서였다. 즉, 그 당시 새로운 검색계로 신물질들을 잡아보리라 의욕에 불 났던 한 한국유학생이 가상하였는지(?) 한곳에 뜻을 두고 열심히 노력하다보면 Fleming처럼 본인이 예상하지도 못한 큰 발견을 할 수 있을 것이라고 말씀하시면서 연구자로서 특히, 새로운 물질을 검색하는 연구에 종사하는 사람은 “serendipity”이라는 말이 가지는 정신을 언제나 가슴속 깊이 새기고 노력해 줄 것을 당부하셨다.

즉, 한편으로는 과학의 다른 분야의 연구자로부터 다소 비과학적이며 비효율적이라고 잘못 인식되어져 있는 탐색연구는 결코 운(運, luck)이나 요행수에 의해서 결과가 얻어질 수 없으며 관련분야의 새로운 과학적 이론 및 방법을 습득하여 최대한 활용하고 여기에 자신이 찾고 있는 물질이 지구상에 꼭 존재하며 언젠가는 꼭 본인이 발견하리라는 굳은 믿음을 가지고 꾸준히 노력하여야만 의미 있고 또한 본인이 예상도 못했던 엄청난 파급효과가 있는 독창성 있는 결과를 얻을 수 있다는 뜻이다.

또 한가지 “serendipity”라는 단어가 내포하고 있는 의미 중에서 신물질검색과 깊은 연관이 있는 것은 새로운 것을 찾으려는 탐구 및 개척자적인 과학자 정신이라 할 수 있다[1]. 즉, Fleming이 penicillin을 발견하고자 했던 동기는 1차 세계대전 시 총상에 의해 부상 받은 환자의 감염된 상처를 환자에게는 고통을 덜 주고 감염의 원인이 되는 세균만을 죽일 수 있는 방법을 찾아보려는 청년 Fleming의 과학도로서의 끈질긴 탐구

정신이 있었기 때문이다. 따라서 “serendipity”에 충만한 사람은 지극히 논리적이며 목표의식이 분명한 과학자라 할 수 있으며 이런 이유로 10년이 지난 지금 본인은 아직도 이 단어를 언제나 머리 속에서 되새기고 있다. 이처럼 과학 발전, 특히 신물질 발견의 역사에서 “serendipity”라는 말이 의미하는 뜻은 현재 국내의 이 분야 연구 종사자들 뿐 만 아니라 독창적이고 의미 있는 연구를 수행하고자하는 국내 과학, 기술자들에게 많은 메시지를 전해 주고 있다.

## 독창적 탐색 연구 결과를 위한 Strategy

이 같은 신물질 발견에 필수적인 의식적인 무장에 더불어 현재 과학에 종사하는 사람이 갖추어야 할 또 한가지 중요한 의식은 본인의 연구를 달성하기 위한 방법의 최적화(optimization)를 들 수 있다. 이를 흔히들 목표 달성을 위한 “strategy”(戰略)이라 하며 본인이 목표성취를 위해 어떠한 전략을 세우느냐에 따라 앞서 말한 “serendipity”가 빠른 시일내에 찾아오거나 혹은 연구자로서의 일생동안 한번도 이런 단어를 사용해보지 못하는 불운을 맛 볼 수도 있다. 특히, 과거의 항세균성 항생물질 검색과 같은 단순 검색계와 달리 현재의 신물질 탐색의 대상은 복잡 다양한 고등 생물의 세포, 생리 현상을 대상으로 하고 있어 목적으로 하는 활성물질을 찾기 위해서는 그에 부응하는 고도의 전략이 필요하다.

이 같은 신물질 검색에 있어 방법의 전략화는 이미 신물질 검색의 종주국이라 할 수 있는 일본을 비롯하여 미국과 유럽에서 최신의 세포생물학, 생화학, 미생물학, 분자생물학, 뇌신경학, 발생학, functional genomics 등의 기초 자연과학의 지식과 기술을 활용하여 수행되고 있으며 그 결과 새로운 약제 개발의 표적분자들이 개발이 증가되고 있다[2]. 아울러 combinatorial chemistry, high throughput screening(HTS), structure based drug design 등과 같은 새로운 화학물질의 합성방법 및 lead compounds의 개량기술이 개발되어 각 과제의 목적에 맞추어 자유롭게 구사되며 탐색된 신물질의 실용화(시약 혹은 의약품으로의 개발)에 박차를 가하고 있는 실정이다[3-5].

여기서 우리가 주목해야 할 점은 신물질 검색에 있어 세계

적인 추세가 세포의 성질을 최대한 활용한 “cell based assay system”이 주로 개발되어 사용되고 있다는 점이다. 즉, 동물, 효모, *C. elegance*와 같은 세포를 직접 검색계에 사용할 경우,

- ① 약제의 세포투과성문제 해결
- ② 세포 내 유사한 표적 분자와의 선택적 활성 평가
- ③ 임상적용의 기초 결과 제시 등 장점이 있다.

단점으로는

- ① 약제의 특이적인 효과를 보기 위하여 세포의 개량이 요구
- ② 작업상의 비효율성(시간, 비용)

등을 들 수 있으나 새로운 검색계 확립이 신물질 획득을 위해 필수적인 점을 감안할 때 이같은 단점을 최대한 보완하고 보다 간편하고 효율적인 “cell-based assay system”이 개발되고 그 활용은 확대될 것이다(6-7).

본 논문에서는 최근 이처럼 신물질발견의 “serendipity”를 증가시키기 위해 사용되었던 독창적인 전략인 “cell based assay system” 몇가지를 소개하여 이 분야 연구 종사자들의 실험설계 뿐 만 아니라 관련 분야 연구자들의 탐색연구에 대한 개념 정립에 도움이 되었으면 한다.

**암세포 이상형태 정상화 유도물질 검색계**

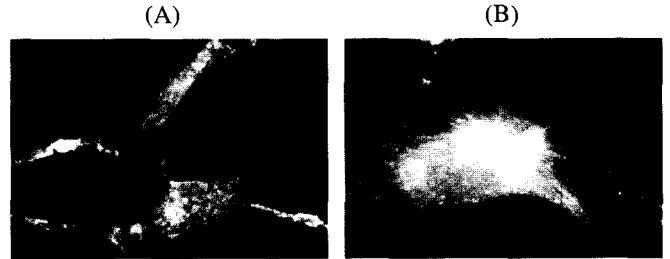
세포 증식 신호 전달계 인자(예를 들어 *c-ras* 유전자의 변이에 의해 활성형 *v-ras*가 발현된 세포)가 유전자의 변이에 의해 활성형으로 되면 세포 증식 주기가 단축되고 증식이 촉진되는 암화가 유발되며 그 결과 세포 형태 및 구성인자(actin stress fiber 등)의 변화가 일어난다[8-9]. 이때 異常 증식의 원인이 되는 암유전자 산물의 기능(활성)을 직접 혹은 간접적으로 저해하면 세포증식이 저지(cytostatic)되고 형태가 정상세포와 유사하게 복귀된다 [10]. 따라서 이 같은 특정 암유전자가 형질 변환된 세포는 암유전자 산물의 기능조절물질을 탐색하는데 사용되어 질 수 있으며 검색시료중의 활성도는 이들 특정세포에 시료 처리후 현미경 관찰에 의한 형태변화로 쉽게 확인될 수 있다.

이 같은 특정 암세포를 활용하여 1차 활성검색을 한 다음 시료의 보다 정확한 세포증식 저지활성은 MTT assay나 flow cytometry에 의해 측정하여 그 활성 pattern을 既知 활성물질과 비교한 후 유효 성분의 분리, 정제를 수행한다. 각 암 유전자별로 표 1과 같은 물질이 주로 미생물 대사 산물로부터 검색되어 세포증식조절에 있어 암 유전자 산물의 기능을 규명하는데 있어 세포 생물학적, 생화학적 기초연구의 재료(probes)로 사용되고 있을 뿐만 아니라 및 이들 암유전자 산물의 기능을 억제하는 새로운 type의 항암제로 개발되고 있다[11-21].

생물산업

**표 1. 암 유전자 산물의 형태를 정상화시키는 활성이 알려진 물질**

암 유전자	저분자 활성 물질
<i>v-sis</i>	Trichstatin A, Trapoxin
<i>v-src</i>	Herbimycin, Radicol, Genistein, Epiderstatin, Reveromycin
<i>v-ras</i>	Depudecin, Azatyrosine, Oxanosine, Acetocycloheximide



**그림 1. v-ras 형질변환된 NIH3T3세포의 depudecin처리에 의한 형태정상화 및 actin stress fiber의 재생. (A) depudecin 무처리시 v-ras NIH3T3 세포의 형태와 actin을 FITC-phalloidin으로 염색한 결과 (B) 세포에 depudecin 처리 24 h 후 flat reversion을 한 세포 형태와 재생된 actin stress fiber를 보여 주고 있다.**

**신경세포 분화 유도 물질 검색계**

神經芽 종양세포(neuroblastoma; NB-1, Neuro-2A) 나 부신피질 유래의 갈색종양 세포(PC12)등은 retinoid acid, dibutylic cAMP, NGF에 의해 분화 유도되어 신경돌기가 伸長 되어 진다. 따라서 이 같은 세포를 사용하여 신경돌기의 신장활성으로 활성 물질을 검색할 수 있으며 lactacystin, NG-011, K-252a 등이 활성물질로 알려져 있다[22-24]. 이같은 물질은 뇌신경세포의 분화유도 기전에 관여하는 인자들의 기능을 해석하는데 사용되고 있을 뿐만 아니라(lactacystin: proteasome 저해제, K-252a: protein kinase 저해제) 뇌종양 치료나 손상된 신경조직의 재생에도 활용되는 의약품으로도 개발이 시도되고 있다.

**효모를 활용한 검색계**

효모는 가장 단순한 진핵세포로서 동물세포의 유전자와 기능적으로 상보하고 유전자 조작이 간편하다 점으로 신물질 검색계에 자주 사용되고 있다. 최근에는 HTS의 검정균으로서 유전적으로 개량된 효모가 활용되고 있으며 이때 효모는 검색하고자 하는 물질과 작용하는 표적단백질을 생산해줌과 아울러 *in vivo*와 유사한 환경을 제공해준다.

- ① 온도 변이주 효모를 사용한 세포주기 저해제 검색

효모의 *cdc*(cell division cycle) 온도 감수성 변이주를 사용하여 특정 변이주의 생육을 효율적으로 저지하거나 형태 변화를 유도하는 활성물질을 검색하는 방법으로 세포주기의 저해 시기에 따라 표2와 같이 분류된 변이주들이 사용된다[26].

표 2. *Schizosaccharomyces pombe*의 세포주기 변이주의 증식 저해시기

변이주	세포주기 저해시기
cdc 2, 10, 20, 22	DNA 합성개시전
cdc 17, 21, 23, 24	DNA 합성
cdc 6, 2, 27, 1, 25, 13	해분열 전
cdc 7, 11, 14, 15	세포분열 septum 형성초기
cdc 3, 4, 8, 12	세포분열 septum 형성후기
cdc 26	세포분열

② Yeast two-hybrid system을 사용한 protein-protein interaction 조절물질 검색

특정 A,B 단백질의 상호 결합이 일어날 때만 전사활성화가 유도되는 two-hybrid system을 사용하여 단백질-단백질 상호 작용을 조절하는 저분자 물질을 검색하는 데 사용되고 있으며 현재 HTS의 검정방법으로 그 활용이 증가하고 있다[7, 26].

## 맺는 말

G7 프로젝트의 일환으로 활성화되었던 국내 신물질 탐색 연구는 99년 현재 생명공학연구소에서만 83개의 신물질과 149개의 기지물질을 발견하는 등(본 특집의 고영희 박사 자료 참조) 그 숫자에 있어서나 물질의 분리, 정제, 구조결정에 관한 기술적인 면에 있어서 세계적인 경쟁력을 충분히 갖추었다고 본다. 이 같은 긍정적인 측면이 있는 반면 이 분야 연구자로서 반성해야 될 부분은 이렇게 숫자적으로 많은 물질 중에서 과연 몇 개의 물질이 적게는 생화학시약으로 그리고 나가서 신약으로 활용되고 있는지에 대해 자책해 보아야 한다는 점이다. 즉, 초창기 아무런 기술과 know-how가 없는 것에 비해 지금의 신물질 탐색 연구분야는 괄목한 만한 발전을 이루고 있음은 사실이다. 그러나 이 분야의 연구에 대한 실질적 효율성 증대를 위한 연구에 대해서는 그동안 여력이 없었다고 해야할까, 소홀했던 점을 간과할 수 없다.

이의 개선을 위해 본 논문에서 기술한 바와 같은 신물질 개발의 기초가 되는 독창적인 새로운 검색계를 지속적으로 개발함과 아울러 일단 분리, 정제된 물질을 개량하기 위해 필요한 거량기술(생리활성물질의 세포 내 표적 단백질 결정, combinatorial chemistry등을 도입한 새로운 의약합성 개량기술, structure based drug design, 간편한 *in vivo* 활성 평가 기술 등)에 대한 연구 및 투자가 시급한 실정이다. 이 같은 연구는 물론 신물질 탐색에 관여한 연구자들이 주도가 되어 수행하여야 되겠지만 신물질이 가지는 파급효과가 단지 탐색 연구로만 그치는 것이 아니라 생물, 화학, 분자, 세포 생물학 등의 기초 학문 및 의학, 농학, 화학공학, 환경등 응용분야로의 파급효과가 지대한 만큼 이들 기초 및 응용분야의 전문인과의 상호 연계에 의한 다학제간 공동연구의 틀이 조속히 마련되어야 할

것이다. 이 같은 과정을 통해 앞으로의 탐색과제 연구는 구조적 신물질 탐색하는 데 치중을 하는 것 뿐 만 아니라 신물질 탐색 후 실제 사용되는 활용분야의 수요(Needs)에 맞는 물질을 개발하게 될 것이고 이를 위해 기초, 전문 지식의 계속적인 재충전이 이루어져야 한다.

이같은 노력의 결과 우리나라에서도 멀지 않은 장래에 penicillin, mevalotin, FK506등과 같은 미생물 기원의 신약이 개발될 수 있으리라 믿으며 이를 위해 이 분야 연구자들의 재분발을 요청하는 바이다.

## 참고문헌

1. Roberts, R.M. 1989. "Serendipity": Accidental Discoveries in Science, John Wiley & Sons, Inc. New York.
2. Karp, P.D., M. Krummenacker, S. Paley, and J. Wagg. 1999. Integrated pathway/genome databases and their role in drug discovery. *Trends in Biotechnology* **17**: 275-281.
3. Combs, A., T.M. Kapoor, S. Feng, J.K. Chen, L.F. Snow, and S.L. Schreiber. 1996. Protein Structure-Based Combinatorial Chemistry: Discovery of Non-Peptide Binding Elements to Src SH3 Domain, *J. Amer. Chem. Soc.* **118**: 287-288.
4. Tan, D.S., M.A. Foley, M.D. Shair, and S.L. Schreiber. 1998. Stereoselective Synthesis of Over Two Million Compounds Having Structural Features Both Reminiscent of Natural Products and Compatible with Miniaturized Cell-Based Assays **20**: 8565-8566.
5. Stockwell, B.R., S.J. Haggarty, and S.L. Schreiber. 1999. High-Throughput Screening of Small Molecules in Miniaturized Mammalian Cell-Based Assays Involving Post-Translational Modifications. *Chemistry & Biology* **6**: 71-83.
6. You, A., R.J. Jackman, G.M. Whitesides, and S.L. Schreiber. 1997. Miniaturized arrayed assay format for detecting small molecule-protein interactions in cells. *Chem & Biol.* **4**: 969-975.
7. Huang, J. and S.L. Schreiber. 1997. A Yeast Genetic System for Selecting Small Molecule Inhibitors of Protein-Protein Interactions in Nanodroplets. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94**: 13396-13401.
8. Wahrman, M.Z., S.E. Gagnier, D.R. Kobrin, P.J. Higgins, and L.H. Augenlicht. 1985. *Tumor Biol.* **6**: 41-56.
9. Wang, Y.-I. and A.R. Goldberg. 1976. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **73**: 4065-4069.
10. Kwon, H.J., T. Owa, C.A. Hassig, J. Shimada, and S.L. Schreiber. 1998. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**: 3356-3361.
11. Yoshida, M., S. Nomura, and T. Beppu. 1990. *Cancer Res.* **47**: 3688-3691.

12. Kijima, M., M. Yoshida, K. Sugita, S. Horinouchi, and T. Beppu. 1993. *J. Biol. Chem.* **268**: 22429-22435.
13. Uehara, Y., M. Hori, T. Takeuchi, and H. Umezawa. 1986. *Mol. Cell Biol.* **6**: 2198-2206.
14. Kwon, H.J., M. Yoshida, Y. Fukui, S. Horinouchi, and T. Beppu. 1992. *Cancer Res.* **52**: 6926-6930.
15. Akiyama, T., J. Ishida, S. Nakagawa, H. Ogawara, S. Watanabe, N. Itoh, M. Shibuya, and Y. Fukami. 1987. *J. Biol. Chem.* **262**: 5592-5595.
16. Osada, H., T. Sonoda, H. Kusakabe, and K. Isono. 1989. *J. Antibiotics* **42**: 1599-1606.
17. Osada, H., H. Koshino, K. Isono, H. Takahashi, and G. Kawanishi. 1991. *J. Antibiotics* **44**: 259-261.
18. Sugita, K., H. Yoshida, M. Matsumoto, and S. Matsutani. 1992. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **182**: 379-387.
19. Shindo-Okada, N., O. Makabe, H. Nakahara, K. Nakajima, and S. Nishimura. 1989. *Mol. Carcinogenesis* **2**: 159-167.
20. Ito, O., S. Kuroiwa, S. Atsumi, K. Umezawa, T. Takeuchi, and M. Hori. 1989. *Cancer Res.* **49**: 996-1000.
21. Ogawara, H., et al., and K. Akiyama. 1989. *J. Antibiot.* **42**: 1530-1533.
22. Omura, S., et al. 1991. *J. Antibiot.* **44**: 113-116.
23. Ito, Y., M. Maruhashi, N. Sasaki, K. Mizoue, and K. Hanada. 1992. *J. Antibiot.* **45**: 1559-1565.
24. Hashimoto, S. 1988. *J. Cell Biol.* **107**: 1531-1539.
25. Wheals, A.E. 1987. *Biology of the cell cycle in yeasts, The Yeasts* Vol. 1, Academic Press, London, UK.
26. Ki, S.W., K. Kasahara, H.J. Kwon, J. Eijima, K. Takesako, J.A. Cooper, M. Yoshida, and S. Horinouchi. 1998. Identification of radicicol as an inhibitor of in vivo Ras/Raf interaction with the yeast two-hybrid screening system. *J. Antibiotics* **51**: 936-944.