

새로운 단백질 진화법 “ITCHY”

생물체내에는 효소를 포함한 많은 단백질이 존재하며 각각 그 특징적인 기능을 발휘하여 생명현상을 유지하고 있다. 생물체에 존재하는 수많은 단백질중 산업적으로 유용한 물질을 생산하거나 유용한 효소반응을 촉매하거나 또는 우수한 생리적 활성을 갖는 효소 또는 단백질이 발견되어 그의 유용성이 입증되는 경우가 많다. 그러나 효소 또는 단백질 자체의 특성에 문제가 있어 산업적 생산 공정확립에 어려움을 야기시키는 경우가 종종 발생하고 있다. 이를 극복하기 위하여 특성이 우수한 효소나 단백질을 스크리닝하거나 고전적 육종방법에 의하여 육종하는 수단이 이용되어져 왔으나 많은 시간과 노력이 요구되는 작업이었다. 그러나 최근 분자생물학의 발달에 힘입어 단백질의 이용가치를 증폭시키기 위하여 단백질의 특성 변환을 *in vitro*에서 시도하는 효과적인 수단으로 DNA shuffling 법, phage display법, random elongation mutagenesis, mutation scrambling법등 많은 *in vitro* evolution방법이 개발되어 활용되고 있다. 이들중 1994년에 본격적으로 *in vitro* 단백질 변환체 제조에 도입된 DNA shuffling법은 단백질의 특성 변환을 위하여 유전자 수준에서 PCR에 의하여 무작위적으로 변이체를 도입하여 library를 제조하거나 상동성이 높은 gene family를 이용한 무작위적 DNA단편 도입, 또는 상기 두 방법의 순차적인 조합에 의하여 변이체 library를 제조하는 방법이다. 이와같이 하여 제조된 library중에서 설정된 분석조건 하에서의 스크리닝을 통하여 원하는 형태로 전환된 유전자를 선별하고 이를 다시 template로 한 2차 변이 유도등의 조작을 반복적으로 행하여 안정성이나 활성이 월등한 단백질을 선별하는 것이다. 그러나 효과적인 변이체 유발 수단의 구축도 요구되지만 또한 심각히 고려되어야 할 사항은 library의 조사하여야할 형질전환군의 수가 방대하기 때문에 효과적이고 정확하게 단백질 특성을 예측할 수 있는 효율적인 스크리닝법의 개발이 필수적이라는 것이며 대상 효소 또는 단백질의 특성에 적합한 스크리닝법을 자체적으로 개발하여야 효과적인 변이체 제조가 가능하다. 현재 방대한 양의 형질전환 개체를 처리할 수 있는 screening system이 개발되어 시판되고 있다. 최근 DNA shuffling법을 이용하여 효소의 활성 증가, 효소의 안정성 향상, folding 개선 또는 기질특이성을 변화시킨 변환체 개발 등 최근 많은 연구성과가 보고되고 있다. 그러나 DNA shuffling법은 상동성이 높은 gene family를 이용하여 상동성이 높은 DNA 영역에서의 재조합만이 가능하며 상동성이 낮은 DNA 영역에서의 재조합, 예를들어, 상동성이 낮은

interspecies 유래의 family를 이용하는 DNA shuffling법에 의한 단백질 특성 개선효과는 기대하기 어렵다. 또한 단백질 공학 연구자들 사이에서는 DNA shuffling과 같이 유전자 상동성이 높은 gene family에 의한 directed evolution 보다는 유전자 상동성은 낮지만 단백질의 구조적 상동성이 높은 단백질 사이의 hybrid제조가 훨씬 효과적일 것이라는 의문이 꾸준히 제기되어 왔다.

최근 Ostermeier 등은 상동성이 낮은 interspecies 유래의 family의 재조합에 적용 가능한 Incremental truncation for the creation of hybrid enzymes(ITCHY)법을 개발하여 발표하였다. Glycinamide ribonucleotide formyltransferase 유전자를 암호하는 대장균의 *purN* 유전자와 인간의 GART 유전자를 대상으로 하였으며 두 유전자사이에는 DNA 수준에서는 50%, 아미노산 수준에서는 41%의 상동성을 보인다. *purN* 유전자의 C-말단부위와 인간의 GART 유전자의 N-말단부위에 exonuclease III처리를 행하여 생성된 deletion mutant들을 결합시켜 *purN* 유전자의 N-말단과 GART 유전자의 C-말단으로 fusion된 library를 제조하였다. 이 ITCHY법에 의하여 유전자 전체 영역에 걸친 다양한 crossover의 변이체가 생성되었고 또한 다양한 크기의 유전자가 생성되었으나 효소활성을 가진 것으로 확인된 변이체는 일정한 단백질 크기 이상이 필요함을 보였다. 이들은 동일한 유전자를 사용하여 DNA shuffling법으로 library를 제조하고 결과를 분석하여 ITCHY법 결과와 비교분석을 하였는데 변이발생 비율, 변이체의 다양성이나 변이체 효소활성 증가면에서 ITCHY법이 더 우수하였음을 입증하고 있다. 또한 상동성이 낮은 부위에서의 fusion이 그렇지 않은 경우보다 우수한 효소적 특성을 나타낸다는 것을 제시하였다. 즉 유전자 상동성은 낮지만 단백질 구조적 상동성이 높은 단백질 사이의 hybrid 제조가 훨씬 효과적일 것이라는 가설을 확인한 것이다. 그러나 DNA shuffling법이 gene family를 이용한 multiple crossover가 가능한 반면 ITCHY법은 single crossover만이 가능한 약점을 보인다. Ostermeier등은 이러한 ITCHY법의 대책으로 ITCHY법에 의해 제조된 library를 이용한 DNA shuffling에 의한 mutiple crossover 유도를 대책으로 제시하고 있다. 그럼에도 불구하고 ITCHY법이 중간유전자 변이체 제조에 활용성이 높고, ITCHY library를 이용한 domain swapping이나 중간 단백질 하이브리드 제조를 통하여 단백질 구조와 기능연구에 폭 넓게 활용될 수 있는 방법임을 암시하고 있다. DNA shuffling법은 염기서열 상동성(sequence homology)에 기초한 *in vitro* 변이체 제조법이지만 ITCHY법은 단백질 구조적 상동성(structural homology)에 의한 *in*

in vitro 변이체 제조법이므로 자연계가 단백질 진화의 수단으로 채택하고 있는 nonhomologous recombination에 더 근접한 방법이라고 할 수 있다. 현재까지 연구된 단백질 공학적 지식으로는 단백질의 구조를 어떻게 변화시키면 단백질의 구조를 향상시킬 수 있는가 하는 명확한 수단이나 방법을 찾아내지 못하고 있으며 이러한 지식이 축적되기 위해서는 상당한 연구기간이 필요할 것으로 사료된다. 따라서 앞에서 기술한 *in vitro* evolution 방법들이 학문적 또는 산업적 유용한 수단으로 계속적으로 활용될 것으로 예상되며 보다 자연계 단백질 진화 수단과 유사하며 효과적인 *in vitro* evolution 방법의 개발을 기대하여 본다. (송기방)

(Nature Biotechnology 17: 1205-1209, 1999)

순산소 포기에 의한 생물학적 폐수처리

생물학적 처리기술은 미생물을 이용하여 오염물질을 환경에 무해한 원소들로 바꾸기 때문에 2차 오염의 우려가 없는 장점 때문에 많이 사용되고 있으며 처리 효율을 높이기 위해서는 미생물의 농도를 높게 유지하는 것이 필요하다. 그러나 공기 포기에 의한 기존의 처리방법으로는 유기물 부하가 높은 유입수가 반응조에 유입될 때 미생물의 호흡에 필요한 산소를 공급하는데 문제가 발생하여 이를 보완하고자 순산소 포기에 의한 생물학적 처리방법이 개발되기 시작하였다. 그러나 순산소를 이용하는 생물학적 처리기술의 초기에는 공기로부터 산소를 분리하는데 따른 제조비용이 높아 폐수처리장에 순산소가 이용되지 못하였으나 산소의 제조비용을 낮추는 새로운 산소 발생장치의 개발로 폐수처리장에 순산소를 이용하기 위한 공정개발이 활기를 띠게 되었다.

순산소 공정이 실제 폐수처리장에 본격적으로 이용되기 시작한 것은 미국의 Union Carbide사에서 개발한 최초의 순산소 공정인 UNOX process가 1970년 미국 디트로이트의 하수처리장에 적용하여 만족할만한 결과를 얻으면서부터였다. 이후 최근까지 UNOX 공법은 일본에서만 80여개가 설치되었고 전세계적으로는 360여개가 건설되었다. 또한 가정하수처리 외에도 제지, 맥주, 염색공단 등에서 나오는 산업폐수에 대해서도 성능 및 효율면에서 우수한 평가를 받고 있다.

이와 같이 60년대 말부터 본격적인 연구가 진행된 순산소 공정은 가정하수나 산업폐수처리에 적용되었으며 기존의 활성슬러지법과 비교할 때 몇가지 특징을 나타내고 있는 것으로 알려지게 되었다. 우선 공기대신 순산소로 포기한다는 물리적인 특징 외에도 포기장치의 산소전달율의 증가로 반응조내 미생물 농도를 높일 수 있다는 점을 들 수 있다. 이로 인해 포기조의 용량을 크게 감소시킬 수 있는데 우리 나라와 같이 심각한 부지난을 겪고 있는 실정에선 중요한 장점으로 작용하고 있다.

생물산업

순산소 활성오니공정은 산소의 분압이 공기에 비해 약 5배 높아 산소전달 속도가 빠르며 활성오니의 농도를 높게(5,000-8,000 ppm) 유지할 수 있어 유기물부하가 높은 폐수의 처리에 적합하다. 이 방법의 장점은 반응기 부피당 폐수처리 속도가 빨라 장치 크기가 compact해지고, 산소의 활용도를 높이기 위해서 밀폐형을 채택할 경우 VOC나 악취 발생을 방지할 수 있으며, 산소 이용효율을 90% 수준까지 높일 수 있어 경제적이다. 또한 공기공급을 위한 blower가 필요 없어 소음 등의 문제를 해결할 수 있어 청정공정이라 할 수 있다. 그리고, 잉여슬러지 발생량이 공기를 사용하는 경우에 비하여 적고 슬러지의 침강성이 좋아 처리수질이 매우 우수하다. 단점으로는 산소생산 비용이 비교적 고가이며, 폐수에 미생물 활동 저해제가 유입될 경우 filamentous microorganism이 과잉 번식하여 슬러지 침전성이 나빠질 수 있는 것이다.

생물학적으로 유기물을 처리할 때 활성오니의 설계 농도는 보통 4,000 ppm 이상으로 유지하는데, 이는 공기를 이용하는 보통 활성오니의 약 2배이다. 이렇게 활성오니 농도를 높게 유지할 수 있는 것은 순산소 활성오니공정이 산소전달능력과 미생물의 침강성이 높기 때문에 가능하다. 이러한 고농도에서 폐수의 수리학적 체류시간은 다른 공정의 그것에 비하여 1/2 이하로 줄어들며, 이것은 곧 포기조 부피의 감소와 투자비 절감으로 나타난다.

이러한 특징들을 종합적으로 살펴보면, 순산소 공정의 운전에서 나타나는 장점들로는 첫째로 공기 포기법에 비해 포기조내의 미생물 농도를 증가시킬 수 있기 때문에 포기조의 용적을 줄일 수 있어 폐수처리장의 부지면적을 감소시킬 수 있다(일반적으로 공기로 포기하는 경우 포기조내의 MLVSS가 2,000mg/L 정도로 유지되지만 순산소 공정의 경우 5,000mg/L 이상에서도 운전이 가능). 둘째로 포기 장치의 산소공급속도가 높기 때문에 유입수의 유기물부하 변동이 심한 경우에 대해서도 산소전달의 한계 없이 안정한 처리효율을 얻을 수 있다. 셋째로는 슬러지의 응집 및 침전성이 우수하여 침전조의 운영이 용이하며, 넷째로 잉여슬러지의 발생량이 공기로 포기하는 경우보다 10-20% 정도 감소하여 슬러지 처분에 소요되는 2차비용을 절감할 수 있다는 점이다. 마지막으로 포기조에서 대기 증으로 배기되는 공기량이 공기 포기법의 1% 정도밖에 되지 않아 악취가 많이 발생하는 폐수나 휘발성 유기물이 많이 함유된 폐수처리의 경우 배기가스를 훨씬 용이하게 처리할 수 있다. 그러나 산소의 이용율을 높이기 위해서 대부분의 공정들이 밀폐식으로 운전되는 순산소 공정은 포기조 상부의 기상에 유기물의 산화과정시 발생하는 이산화탄소가 대기 증으로 쉽게 방출되지 못하고 포기조내로 다시 용해됨으로써 pH를 저하시키게 되어 pH에 큰 영향을 받는 질산화 미생물의 반응을 억제시킬 수 있다. 따라서 질산화가 요구되는 폐수에 대해서는 반응조내의 pH가 중성이하로 떨어지지 않도록

록 alkalinity를 적절하게 공급해 주어야하는 단점도 있다. 따라서 생물학적 처리 방법에 있어서 순산소의 장점을 최대한 이용하고, 단점을 보완할 수 있는 경제적이고 효율적인 기술개발이 필요하다. (이진원)

Humanized xenomouse에 의한 인간항체 생산

진단 및 치료에 사용되는 단클론 항체의 종류 및 사용량이 급증하고 있다. 그러나 단클론 항체의 유용성에도 불구하고 *in vitro*나 생쥐를 사용한 *in vivo* 실험에서는 효과를 나타내던 항체가 인간에게 투여하면 효과를 나타내지 않는 경우가 대부분이다. 그 이유는 설치류 기원의 단클론 항체를 인체에서는 항원으로 인식하여 면역반응이 유도되어 항체로서의 기능을 다하지 못하기 때문이다. 경우에 따라서는 심한 알레르기 같은 과민 면역 반응이 유도되기도 한다. 따라서 이러한 문제를 해결하기 위해서 설치류 기원이 아닌 인간 기원의 단클론 항체를 제작하려는 시도가 전세계적으로 이루어지고 있다. 이러한 시도로는 설치류 기원 단클론 항체의 유전자 조작을 통한 인간화, phage display 기술을 이용한 유전자 재조합 항체의 제작, 인간 골수 세포 이식을 통한 scid 면역 결핍 생쥐의 인간화, 그리고 생쥐의 항체 유전자를 인간의 항체 유전자로 대체한 xenomouse의 제작 등이 있다. 이러한 접근방법들은 각각 장단점이 있으나 다양하고 광범위한 인체 질환 진단 및 치료 재료의 개발에 가장 적합한 기술은 인간항체 생산을 위한 humanized xenomouse의 제작이다.

이러한 humanized xenomouse가 최근에 미국의 두 유전공학회사인 메다텍스(뉴저지주 프린스턴)와 에브제닉스(캘리포

니아주 프레몬트)에 의해 성공적으로 개발됨으로써 인체 질환 치료용 항체의 대량 생산이 가능해졌다. 100% 인간항체를 가진 쥐는 쥐가 원래 갖고 있는 유전자를 조작해 쥐의 면역체계가 아닌 인간의 면역체계를 갖게 하는 방법으로 만들어 졌다. 에브제닉스는 그 동안 Genentech, Amgen, Pfizer, Centercore 등의 세계적인 생명공학 회사로부터 licence 계약을 위한 투자를 받아왔으며 메다텍스는 세계최대 유전공학회사인 암젠사와 메다텍스가 개발하는 항체를 이용할 수 있는 5년 계약을 맺었고 일본의 기린 맥주사와도 licence 계약을 체결했다. 이러한 인간 기원의 단클론 항체는 지난 5년간 약 500%의 시장이 증가율을 보였고 향후 5년간 미국시장은 175억불로 추정되고 있다. (정연호)

환경분야와 생명공학

가뭄으로 에디오피아에서 수 백만 명이 아사에 내몰리고 수 천만 인도인이 살던 땅을 떠난다. 97년 구제역으로 대만에서는 385만두의 돼지를 도살매립하였다. 중랑천 물고기의 폐죽음, 산불과 물난리와 토양유실, 지구온난화설로 산업자주권과 경제발전의 제한, 자원용량과 환경용량의 한계를 극복하는 생명공학의 발전은 이러한 환경재앙과 환경 갈등을 잠재워 우리들의 행복을 담보하는 의지처가 될 것인가? 표 1을 빌려 이 문제를 더듬어 가보기로 한다.

환경생명공학산업의 꽃 환경미생물은 환경오염을 처리하고 환경오염의 지표가 되는 유용한 존재이나 환경 중에서 없어야 하는 유해한 존재이기도 하다.

안전한 환경과 식품을 확보하는 선행 요건은 병원미생물이

표 1. 우리나라에서 열려야 하는 환경생명공학기술과 산업

구 분	생명공학산업분야 중점요소	비 고
안전관리	환경오염 및 영향지표 이용기술과 산업 환경보건관리기술과 산업 환경생태안전성관리기술과 산업	지표생물과 지표분자 분석 백신 개발, 생산과 위생관리기술 신종생물체와 유전변형체 관리
자원용량	어류 양식 및 양식환경기술과 산업 삼림자원 조림기술과 산업 내건조성식물 및 생육토개발과 산업 단기녹화피복기술 및 녹화피복산업 이산화탄소 고정기술 및 산업	연근해 및 공해 양식 국내 조림 및 벌목연계 조림 건조지역 및 사막지역 녹화 산불지역 및 기타 토양유실 방지 지구온난화 귀책 해소
환경용량	청정기술과 산업 환경오염처리와 복원기술 및 산업 이산화탄소고정기술 및 산업	생물축매와 반응조절 기술 인체 및 생태계 위해성 해소 해양 및 육상 이산화탄소고정
문명과 자연의 공존	벼 2모작 한계선 확장기술과 산업 토양/미생물/동식물 물질순환촉진산업 식량 및 영양물질 생산기술과 산업 내한성/내건조성 경작/녹화기술 및 산업 생태공학기술과 산업 유전체/생태계 보존과 개발기술 및 산업	비경작 평지의 확장 비료이용효율 증대와 순환형 생산 광합성효율과 성분합성 강화기술 식량증산, 지구온난화/사막화 방지 자연환경 복원과 문화환경 창조 생물다양성과 생물자원 확충

나 유전자변형생물과 신종병원체를 고감도로 신속하고 경제적으로 분석하는 것이다. 미국에서조차 수돗물 속의 바이러스나 원생동물을 실용적으로 분석해내는 기술을 확립하지 못하여 수돗물의 미생물학적 안전성 관리에 사각지대가 있어 왔는데 유전자나 단백질분석기술은 수돗물과 바이러스나 원생동물의 실용적인 분석을 가능하게 하는 생명공학기술로 전 세계의 상수도 와 농수산물 을 잠재시장으로 한다. 환경의 안전도와 위험도를 극히 예민하게 반영하는 생명공학적인 지표미생물의 개발과 활용도 환경오염의 예방과 관리에 필수적인 구비요건이 되고 있다.

다이옥신이나 환경호르몬과 같은 발암물질이나 독성물질의 초미량 인체오염과 건강영향을 예민하게 검출하는 유전자지표와 생화학적 지표개발과 분석법 연구가 선진국에서 활발하게 연구되고 있어 향후 환경보건관리가 보다 충실해질 것으로 예상되고 있다. 환경오염감지유전자를 넣은 난이나 실내용 화초는 갈수록 중요한 실내환경의 일상적 관리도 가능하게 한다.

자원용량을 확장하는 생명공학기술 중에서 벼의 2모작 한계선 확장이나 내한성 경작과 녹화기술의 확충은 우리에게 전략적인 중요성을 지닌다. 벼의 2모작 생명공학기술은 제주도 수 배 이상의 평지를 쌀농사가 아닌 생활과 자연을 위한 공간으로 활용할 수 있게 하여 시민에게 푸른 정원의 꿈까지 열어준다. 내한성경작과 녹화를 가져오는 생명공학기술은 우리나라와 만주-시베리아를 잇는 대별관의 식량과 생물산업자원용량을 대폭확장하여 세계적인 식량과 생물자원위기를 잠재운다.

수산자원 남획규제와 갈수록 좁아지는 우리어장의 축소를 해소하는 길은 연근해와 공해상의 친환경적인 양식기술이다. 생명공학기술로 수산자원용량을 대폭 확장하여 환경오염없이 세계인에 필요한 해산물을 풍족하게 공급하면서 바다 물놀이 공간을 넓히고 바다생태계에도 자유를 넓혀주는 것이다.

강원도에서와 같이 불타버린 산에서 토양유실을 긴급히 저지하고 농업의 일손을 더는 기술도 풀씨와 작물의 종자를 발아와 토양층 전입에 필요한 매질에 넣어준 항공살포이다. 건조지역을 녹화하고 이산화탄소 고정량을 늘여 지구온난화 압박에서도 자유도를 늘려가는 기술이 보습성이 뛰어난 생물고분자와 식물을 개발하고 토양층에 입혀주는 생명공학기술이다.

그러나 환경분야에서 더욱 기대가 되는 것은 환경용량을 늘리고 문명과 자연을 인간과 공존하게 하는 생명공학기술이다. 생물축매와 생물축매반응조절기술은 버리는 음식물이나 매립지 쓰레기를 생물비료나 에너지와 같이 유용한 생물자원으로 활용하여 버림을 적게 하고 인류가 꿈꾸는 순환형의 사회를 건설할 수 있게 한다. 유해한 환경오염물질이 생기지 않는 생명공학적인 청정기술은 화학산업과 같은 오염형 산업이 길게 드린 오염의 검은 그림자를 지워준다. 이같이 환경분야의 생명공학기술개발과 산업화는 자원용량과 환경용량을 확장하여 문

생물산업

화환경을 창출하고 인류사회가 21세기 자원과 환경위기를 슬기롭게 넘기고 평화 속에 번영하는 신천지를 열어주는 것이다. (김종민)

Collagen-binding growth factors : Production and characterization of functional fusion proteins having a collagen-binding domain

Clostridium perfringens, *C. histolyticum* 등의 gas 피저균 균이 생산하는 collagenase는 생체내 주변 결합 조직의 급격한 파괴를 일으키는 과정에 관여하는 중요한 독소이다. 이러한 collagenase는 일반적인 protease와는 달리 3중 나선 구조를 갖고 있으며, 물에 불용성인 collagen을 가수분해한다. 이 중에서도 *C. histolyticum*이 생산하는 collagenase에 대해서는 다수의 생화학적 연구가 행해져 왔으나, 유전학적 수법을 이용한 분자 level에서의 연구는 최근 수년간에 걸쳐 수행되어, *C. histolyticum*이 생산하는 collagenase는 3개의 segment 구조 (S1, S2, S3)를 갖고 있으며, N-terminal을 포함하는 S1에 metalloprotease에 공통인 motif(HEXXH)가 존재하는 한편, 그의 C 말단 부위에 collagen과 특이적으로 결합하는 binding domain이 존재하는 것이 밝혀졌다. 또한, Nishi 등은 collagenase의 C-말단 부위의 collagen binding domain(CBD)를 이용하여 새로운 drug delivery system의 개발 가능성을 다음과 같이 제시하고 있다.

세포성장 인자 등의 단백질성 정보 전달 인자는 다양한 생리 활성을 나타내고 있는 점에서 약제로서의 잠재적인 이용 가치가 갖고 있으나, 이들의 인자는 일반적으로 표적 특이성이 낮으며, 체내에서의 잔류시간도 짧기 때문에 종래의 약제 투여법으로는 유효하게 이용할 수가 없다. 그러나, 생체내에 대량으로 존재하는 collagen에 특이적으로 결합하는 CBD의 성상을 이용하면, collagen이 풍부히 존재하는 extracellular matrix (ECM)에 다양한 물질을 targeting 할 수 있다. 즉, 단백질성 인자를 CBD를 매개로 해서 collagen에 고정화해서, 그의 작용을 제한된 부위에서 국소적, 지속적으로 발휘시킴으로서 상기의 문제점을 해결할 수 있다. 이를 위하여 저자 등은 epidermal growth factor(EGF) 및 basic fibroblast growth factor(bFGF)와 CBD의 fusion protein(CBEGF, CBFGE)을 생산하여, 이들의 collagen 결합능과 세포 증식 촉진 활성을 *in vitro*와 *in vivo*에서 조사하였다. 그 결과 CBD의 N 말단에 세포 성장 인자 domain을 융합시킨 CBEGF와 CBFGE는 CBD와 동등한 collagen 결합 능력을 갖고 있었으며, 양자의 배양세포에 대한 증식 촉진 활성은, EGF와 비교해서 CBEGF의 비활성이 저하한 것을 제외하고는 세포성장인자와 거의 같은 level을 유지하고 있다. 한편, EGF와 CBEGF를 마우스에 피하 투여한 결과, EGF는 24시간 이내에 소실한 것과는 달리 CBEGF는 투여 부

위의 ECM에 투여 10일 후에도 검출되었다. 그러나, CBEGF의 투여 부위에서는 세포의 증식 축진을 나타내는 명확한 data를 얻을 수는 없었지만, CBFGF의 경우에는 투여 후 7일째에도 투여 부위의 stromal cell에 있어서 현저한 DNA 합성 활성의 증대가 관찰되었다. 이러한 결과들은 CBD를 이용함으로써 단백질성 인자를 장기간 뿐만 아니라 비 확산성의 약제로서의 이용을 가능하게 하는 새로운 drug delivery system의 개발 가능성을 시사하고 있다. (정창민)

(Nishi N., et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95(12), 7018-7023, 1998)

항생제 내성균에 대한 새로운 접근

기존의 항생제가 세균 내성으로 점점 효과를 잃어감에 따라 가장 강한 항생제에도 반응하지 않는 소위 슈퍼박테리아(superbug)까지 출현하기에 이르렀고 이들 슈퍼박테리아를 통제할 수 있는 보다 강력한 새로운 항생제의 필요성이 대두되고 있다. 1999년에 FDA 허가를 얻어낸 Rhone-Poulenc Rorer의 streptogramin 계열 주사용 항생제인 Synercid는 메티실린 내성 포도상구균(MRSA)과 반코마이신 내성 장구균(VRE) bacteremia와 관련된 중증 또는 치명적인 감염증 환자들의 치료를 적응증으로 하는 항생제로는 최초로 발매되었다. Pharmacia & Upjohn이 개발하여 최근에 FDA의 허가를 얻은 합성 항생제인 Zyvox(linezolid)는 항생제 내성 세균에 대해 효과가 있을 것으로 기대되고 있으며 완전히 새로운 개념의 항생제로는 35년만에 처음 개발된 제품이다. 기존 항생제들과는 달리 세균의 초기 성장단계에서 단백질 생성을 억제, 세균을 공격하는 작용을 한다. 정맥주사제와 경구제 2가지 제형으로 발매될 zyvox는 성인의 원내감염 폐렴, 지역감염 폐렴, 합병증 및 비합병증의 피부 및 조직감염, 반코마이신 내성 포도상구균 감염 치료제로 허가되었다.

최근에 항생제에 내성을 갖는 치명적인 세균에 대해 강력한 효과를 나타낼 수 있는 분자를 창출하여 새로운 종류의 항생제로 개발할 수 있게 되었다. Gellman 박사 등의 Wisconsin 대학 연구진은 펩타이드에 기초한 새로운 분자를 제안하였고 이 펩타이드는 이미 천연적으로 식물로부터 인간에 이르기까지 세균을 죽이는 용도로 이용되고 있던 것이다. 최근까지 펩타이드를 항생제로 이용하는 것은 문제점을 안고 있었다. 그 이유로는 생체 내에서 쉽게 실패되거나 때로는 인간세포에 대해 위해한 작용을 나타내기도 하였기 때문이다. 그러나 이들 연구진이 개발한 합성 β -amino acid oligomer (베타 펩타이드)는 혈액세포에 대해 안전하였고 생체 내에서 분해되지 않는다고 한다. 실험실적으로는 슈퍼박테리아라고 불리는 반코마이신 내성 장구균(VRE)과 메티실린 내성 포도상구균(MRSA) 등의 항생제 내성 세균에 대해서 활성을 나

타내었다. 반코마이신은 복부와 요도 및 수술후 상처와 심지어는 심장판막의 염증을 일으키는 치명적인 장구균에 대해서 최종 선택되는 항생제이다. 메티실린은 피부, 조직, 뼈와 관절에 심각한 감염을 일으키는 포도상구균에 대한 치료제로 선택된다. Gellman 박사는 베타펩타이드는 세균막에 구멍을 뚫는 천연적인 펩타이드와 같은 메커니즘으로 작용하는 것으로 보고하였다. National Institute of Allergies and Infectious Diseases의 Miller 박사는 “이것은 세균의 항생제 내성과 싸울 수 있는 완전히 새로운 방법이며 우리는 현재 더 많은 신 개념의 무기를 요구하고 있다.”고 전제하고 이 분자들은 기존의 전통적인 항생제와는 전혀 다르게 작용하기 때문에 세균들이 이에 대한 저항성을 나타내도록 진화하기는 더 어려워 질 것으로 예측하였다. 현재 개발 중에 있는 약물에 대해서도 Gellman 박사 팀의 베타펩타이드를 포함하도록 구조를 변형할 수 있으며 독성이 적고 생체 내에서 더 안정한 분자를 만들 수 있을 것이다.

이외에도 현재 진행되고 있는 주목할만한 새로운 항생제 개발 동향을 살펴보겠다. 기본 구조의 변형을 통해 다양한 형태의 유도체를 개발해 왔던 기존의 항생제 개발과는 다른 차원에서 polyketide 생합성 관련 효소들을 이용하는 방법이 TerraGen, Kosan 등에서 개발되고 있다. 그러나 많은 다른 기업들은 target-directed screen과 rational drug design을 적용하여 새로운 종류의 항생제를 개발하려 하고 있다. 이러한 경우에 microbial genomics는 가능성 있는 target들을 제공하게 될 것이다. GLYCODesign은 이미 임질균의 virulent factor인 lipooligosaccharide의 생합성에서 중요한 효소인 glycosyltransferase를 target으로 하고 있으며 새로운 작용 기전(novel mode of action)을 적용한 항생제 개발의 한 예로 Neose Technologies가 개발중인 oligosaccharide는 세균이 host에 부착하는 것을 억제하는데 세균이 이를 극복하려면 adhesin 분자 구조를 변형시켜야 하며 이렇게 되면 host 세포를 인지할 수 없게 된다. 이러한 경우에는 세균이 항생제에 대한 내성을 나타내기 어려울 것으로 기대된다. SIGA 제약은 세균의 부착 mechanism 자체를 target으로 하고 있다. Inhibitex는 세균의 adhesion 단백질을 인지하고 파괴하는 인체의 면역반응을 이용하는데, 포도상구균의 표면에 있는 microbial surface component-recognizing adhesive-matrix molecules(MSCRAMMs)의 일부를 vaccine으로 사용한다. MedImmune은 요로 감염성 대장균의 pili 부착에 관여하는 FimH 단백질을 vaccine으로 개발하고 있다. 다른 한 분야는 cationic peptide로서 이들은 자연계에 널리 존재하며 식물로부터 곤충, 양서류, 인간에 이르기까지의 진화단계에서 일차방어선의 역할을 수행하고 있다. 대부분은 광범위한 항균 spectrum을 나타내며 세균 세포막의 기능을 파괴하는 것으로 알려지고 있다. XOMA, Magainin 제약, Demegen, Micrologix Biotech, IntraBiotics

제약, AMBI, Cubist 제약 등이 개발하고 있다.

좀더 장기적이고 실험적인 전략으로는 OligoTherapeutics의 antisense 즉 nucleic acid-based antibiotics(nubiotics라고 명명)로서 bacteria target 유전자의 돌연변이에 쉽게 적용할 수 있다는 장점을 내세우고 있다. Exponential Biotherapeutics는 bacteriophage therapy로 VRE에 대한 임상을 준비중이다. Phage에 대한 항체의 생성이 문제될 수 있으나 위급한 상황에서 일회요법으로는 가능할 것이다. Target strain만을 선택적으로 파괴하며 세균의 돌연변이에 대해서 phage도 돌연변이로 맞설 수 있다는 장점이 있다.

대부분의 전문가들은 broad-spectrum 항생제보다는 narrow-spectrum 항생제를 사용하는 데 찬성하고 있으며 그 이유는 broad-spectrum 항생제는 target 병원균뿐만 아니라 다른 미생물에게도 내성을 유도할 수 있기 때문에 새로운 내성 mechanism을 발전시킬 수 있는 기회와 다양한 미생물 집단간에 내성의 공유가 증가할 수 있기 때문이다. 그러나 현재 narrow-spectrum 항생제의 사용은 병원균의 진단에 필요한 36-72시간 때문에 위급한 상황에서의 사용이 제약받고 있다. 신속한 진단법의 개발에는 어느 정도 시간이 필요하기 때문에 그 동안 다른 해법을 찾아야 한다. 현재 개발중인 약물 중에서 세포부착을 방해하는 약물은 병원균이 이미 colonization된 감염 후기에는 효과가 없을 수도 있다. Cationic peptide의 경우에는 수억 년에 이르는 진화의 과정에서도 아직 내성이 생기지 않았기 때문에 앞으로도 내성의 염려가 없다고 하는 주장도 있으나 일단 내성이 생기면 정상인의 면역 system까지도 극복할 수 있는 극히 위험한 "satan bug"의 출현으로 이어질 수 있다는 경고도 있다.

의약과 농업 분야에서 광범위하게 진행되고 있는 항생제의 오용과 남용 문제는 사용을 규제함으로써 해결되지는 않을 것이다. 단순히 항생제의 사용을 제한하게 되면 막대한 자금이 소요되는 항생제 개발에 아무도 나서지 않을 것이므로 제한된 사용에 따른 적당한 반대급부가 정부로부터 주어져야 할 것이다.

현재 microbial genomics의 발전은 항생제 개발 방향에 큰 변화를 일으키고 있다. *Haemophilus influenzae*를 비롯한 약 20종의 중요한 병원균에 대한 genome project는 거의 완성되었고 이 결과는 이미 활용단계에 이르렀으며 막강한 power를 과시하고 있다. 한 예로 1995년 이전에는 2종류만 알려졌던 항생제 개발의 중요한 target인 세균성 tRNA 합성효소를 1999년에는 19가지나 확인할 수 있었다. 향후 발전될 DNA chip technology는 세균의 진단과 내성균 출현의 추적방법을 크게 변화시킬 것이며 narrow-spectrum 항생제를 투여할 수 있도록 기여할 것이다. (김태용)

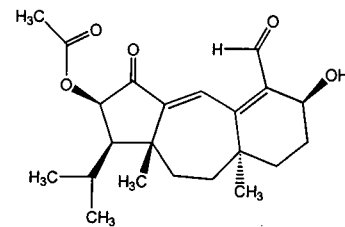
(Nature 404 : 565, 2000, Nature Biotechnology 17 : 1165, 1999, CNN Health 5 Apr, 2000)

생물산업

Guanacasterpene, Antibiotic with a New Carbon Skeleton

미생물의 이차대사 산물에 대한 관심은 크게 2가지로 구분할 수 있을 것이다. 첫째는 이들이 생산하는 물질의 생리활성 측면이고, 둘째는 이들 물질의 구조적 특이점이라 할 수 있다. 이 두가지의 특징을 잘 만족시키는 물질이 미국의 코넬대학 팀에 의해서 최근에 미국화학회지에 발표되어 소개하고자 한다.

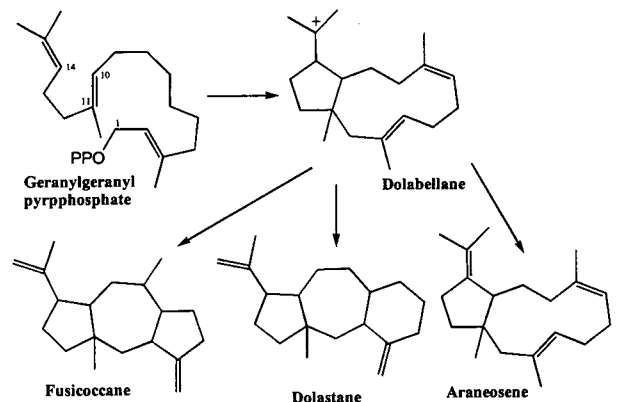
일반적으로 자연계에서 분리된 유용 활성 물질들 중에서 약 25%정도가 곰팡이가 생산하는 물질로 분류되고 있다. 그리고 일천오백만종의 곰팡이가 지구상에 존재하고 있으며, 이 중에서 약 7,000여종만이 분류되어 사용되고 있다고 추정하고 있다. 이들 곰팡이 중에서 코넬대 연구팀은 유관속 식물에 자생하는 곰팡이들에 관심을 가지고 연구하던 중에 Costa Rica의 *Daphnopsis americana*라는 나무에서 분리한 endophytic fungi로부터 tricyclic [5-7-6] diterpene류의 매우 흥미있는 구조를 가진 물질인 guanacasterpene을 분리하였다.



Guanacasterpene

이 화합물은 지금까지 분리된 다양한 diterpene들과는 전혀 다른 골격을 가지고 있다. 이와 유사한 구조를 가지고 있는 140여개의 화합물들이 해양생물에서 분리되었지만 guanacasterpene의 골격을 가진 물질은 분리된 적이 없다.

해양생물에서 주로 분리된 이런류의 diterpene들은 다음과 같은 생합성 과정을 거치리라 추정하고 있다. 즉, geranylgeranyl pyrophosphate로부터 dolabellane을 중간체를 거쳐서 [5-11]의 araneosene, [5-7-5]의 골격을 가지고 있는 fusicoccane, guanacasterpene과 같은 [5-7-6]의 골격을 가진 dolastane을 생합성하는 과정이 그것이다.



해양생물에서 분리된 diterpene들은 주로 [5-11]-골격을 가진 dolabellane 유래 화합물이 주종을 이루고 있다. 이런 측면에서도 곰팡이로부터 분리된 guanacasterpene은 구조적이 특이성을 가진 화합물이다.

Guanacasterpene은 구조적 특성 뿐만아니라 그 생리활성 측면에서도 흥미 있는 화합물이다. 국내외적으로 항생제 내성문제가 심각하게 대두되고 있으며 특히 methicillin에 저항성을 보이는 *Staphylococcus aureus* 그리고 vancomycin에 저항성을 보이는 *Enterococcus faecalis* 등이 심각한 병원성균으로 분류되고 있다. 코발대 팀이 분리한 이 물질은 이들 두 균에 대하여 매우 우수한 활성을 보여주고 있다 (100 μ g의 화합물을 처리하면 이 두 가지의 균주에 대하여 각각 11와 17 mm의 성장저해환을 보여준다).

이러한 연구결과는 endophytic fungi에 대한 연구로 새로운 골격의 이차대사산물을 얻을 수 있음을 시사해 주고 있다. (권병목)

(J. Am. Chem. Soc., 122: 2116-2117, 2000)

A Unique Chitinase with Dual Active Sites and Triple Substrate Binding Sites from the Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1

키틴은 N-acetylglucosamine(GlcNAc)의 β -1,4 연결된 불용성의 선형 폴리머로 glycan의 커다란 family이다. 이것은 고등 곰팡이의 세포벽, 곤충의 외피, 절지동물, 일부 박테리아의 extracellular polymer로 존재한다. 키틴은 지구상에서 셀룰로즈 다음으로 풍부한 재생 가능한 천연자원으로서 연간 생성량은 1,010 - 1,011톤 정도로 화학 및 생물공업에 있어서 중요한 원료물질로서 다양하게 용도가 개발되어야 할 자원이라 할 수 있다. 수많은 기능성 탄수화물 중에서도 특히 chitosan과 chitoooligosaccharides는 일반적인 기능성 탄수화물이 갖는 생화학적 성질 이외에도 항균성과 항암성 등의 생리적 특성을 갖는 것으로 알려지면서 식품 및 의약품분야에서 주목을 받고 있다.

열안정적인 chitin-hydrolyzing enzymes(chitinases)의 응용성은 이들 풍부한 자원의 효과적인 활용을 기대할 수 있다. Eucarya와 박테리아에서 유래한 다양한 chitinases와 그들 유전자가 연구되었으나 archaeal chitinase에 관한 연구는 호열성 archaeon인 *Thermococcus chitonophagus*로부터 유래된 효소를 제외하면 충분한 연구가 없는 실정이었다. 국내에서는 키틴을 분해하는 기존의 endo-chitinase는 *Serratia marcescens*, *S. liquefaciens*를 비롯하여 *Cellulomonas* sp. 등으로부터 생산되었으며, endo-chitosanase는 *Bacillus circulans*, *Bacillus* sp. 등으로부터 생산되었고 대부분의 균주가 중온 및 중성 pH에서 배양조건이 최적인데 반하여 최근에 새로운 고온성

chitinase에 대한 연구논문이 발표되었다.

일본 Kyoto Univ.의 T. Imanaka 교수팀은 오랜 시간 동안 고온균에 관한 연구를 해오던 바 extracellular chitinase를 분리하는 호열성 archaeon인 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1를 발견하였고, chitinase를 encoding하는 유전자인 *chiA*를 클로닝하고 염기서열을 밝혔다. *chiA* 유전자는 알려진 chitinase 중에서 가장 큰 분자량인 134,259 Da을 지닌 아미노산 1,215개를 coding하는 3,645개의 염기서열로 구성되어있음을 밝혀냈다. 현재, glycosyl hydrolases는 아미노산 서열상동성을 기초하여 57개 family로 분류하는데, Family 18은 bacteria, fungi, viruses, animal과 일부 plant의 chitinase를 포함하고(class III, V), 반면에 Family 19는 *Streptomyces griseus* HUT6037로부터 유래된 bacterial chitinase를 예외로 하면 대부분의 plant chitinases를 포함한다(class I, II, IV). 염기서열 분석에서 *chiA*는 각각 구별되는 두개의 구역의 active sites를 지니고 있고, ChiA의 양쪽 촉매부위는 glycosyl hydrolases의 Family 18로 분류되었다. N-말단과 C-말단 구역이 *Bacillus circulans* WL-12의 chitinase A1과 *Streptomyces erythraeus* (ATCC11635)의 chitinase와 각각 염기서열 유사성을 보여주었다. 무엇보다도 *chiA*는 다양한 cellulase의 cellulose binding domain과 염기서열 유사성을 보이는 독특한 binding domains(CBDs)인 CBD1, CBD2, CBD3를 보유하고 있었다. Cellulose binding domains은 13개 family로 분류될 수 있는데, Families I, II, III, IV, V의 3차구조는 적어도 각 family의 한 member로 해석되어진다. 본 효소의 CBDs중에서 CBD1은 cellulose binding domains의 V type family group으로 분류되고 CBD2, CBD3는 II type family group으로 각각 분류되었다. *chiA*를 *E. coli*에서 발현시켜 재조합 단백질을 일정하게 분리 정제하여 효소특성을 조사한 결과 본 연구의 효소인 chitinase의 최적활성 온도 및 pH는 85 $^{\circ}$ C와 5.0으로 나타났다. Thin layer chromatography 분석결과와 형광 기질을 이용한 효소활성을 측정된 결과는 본 효소는 chitobiose를 주산물로 하는 endo-type의 효소임을 알 수 있었다. 다양한 deletion mutants를 제조하여 효소의 특성을 분석한 결과는 N-말단과 C-말단 각각의 반은 독립적으로 효소활성을 지니고 있으며 CBDs는 불용성 chitin의 binding과 가수분해에 있어서 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있었다. C-말단 반 부분을 지닌 deletion mutants는 N-말단을 보유한 half mutant와 wild-type *chiA*에 비하여 보다 높은 열안정성을 보이는 것을 알 수 있었다. (최용복)

(Appl. Environ. Microbiol., 65(12):5338-5344, 1999)

생명을 위협하는 병원성균에 어떻게 접근하고 있는가?

이상적인 항미생물 제재를 개발하길 희망하는 여러 연구자

들은 병원성균의 매우 정확한 생화학적이며 생리학적인 공격 표적을 겨냥하고 있다. 이러한 접근이 환자를 치료할 수 있는 유용한 약제의 생산으로 이어질지의 여부는 아직 미지수이다. 그러나, 적어도 새로운 앞선 주자들은 어떻게 여러 가지 중요한 병원성균의 활동을 방해할 수 있는지에 대한 가치있는 의견들을 제시해 주고 있다. 바로 그 중요한 병원성균에 장출혈성 대장균(*Escherichia coli* O157:H7), 비브리오균(*Vibrio cholerae*), 및 헬리코박터균(*Helicobacter pylori*) 등이 포함된다.

E. coli O157:H7은 소화기 체계를 파괴하고 간장이나 신장 부전과 같은 치명적인 합병증에 이르게 할 수도 있다. 이러한 독성은 2가지 쉬가형 독소(shiga-like toxin)인 SLT-I과 -II에서 부분적으로 기인하고 있는데, 그것들은 *Shigella dysenteriae* type 1에 의하여 생성되는 독소와 유사하다. 캐나다 앨버타대학의 David Bundle에 의하면, *E. coli* O157:H7의 SLT-I과 -II를 위한 결정적인 개시 단계는 그들이 표적이 되는 포유동물 세포에 결합하는데 관여한다는 것이다. 최근에 Bundle과 그의 동료 연구자들은 시험관에서 바로 그 SLT-I과 -II에 결합하여 중화할 수 있는 별 모양의 분자를 고안하였다. 이 저해제는 그 중심되는 구조로 간단한 당인 글루코스(glucose)를 사용하며 SLT-I과 -II가 결합할 수 있는 포유동물 세포 수용체의 모티프로 편입된다. Bundle은 이 표준형 향미생물 제제가 주사형으로 개발되어, 대장균이나 다른 독소 생산형 병원성균들이 어떤 사람을 감염하여 신체 어디서든 이들 독소를 방출하기 시작한 후 SLT를 무력화하는데 사용되기를 희망하고 있다.

그 저해제 분자는 구조가 불가사리 모양이어서 'Starfish'라고 이름지어졌으며, 글루코스 탄소로부터 특 튀어나온 5개의 우주선 팔 모양의 각각에 붙여진 2개의 수용체 유사체를 가진다. 정제된 시료의 결정은 그 유사체와 SLT-I 사이에 완벽한 적합성을 보여주었다. 사실, "한 개의 Starfish 분자가 2개의 독소 분자와 원래 표적으로 하지 않았던 것을 중화하여 끝낸다"고 번들은 말하고 있다. 일단 독소가 Starfish 분자와 복합체를 형성하면, 그들의 독소 효과는 이전에 알려진 어떤 저해제보다 거의 1000만 배 더 효과적으로 중화된다. 그 뿐 아니라, SLT-II 활성화에 대한 어떤 다른 저해제도 아직 알려진 적이 없다. 이 Starfish 저해제가 "일년 내에 임상적 시험에 오를 수 있을 것"이라고 번들은 얘기하면서 이런 말을 덧붙였다. "우리는 콜레라 독소와 같은 연관된 독소에도 역시 이러한 디자인이 확장될 수 있길 원한다".

출혈성 대장균에 의하여 야기된 감염을 치료하기 위한 약을 개발하려는 이러한 노력은 "엄청난 전진"이라고 켈거리대학교의 Don Woods(캐나다 세균 질환 넷웍의 과학 이사)가 평가하고 있다.

이번 여름 우리 나라에서도 많은 곳에서 집단적으로 설사 환자가 발생하고 있는 실정이다. *E. coli* O157:H7의 발생이 일본이나 서구에서만 있으란 법이 어디 있겠는가? 급속도로 생물산업

식생활 문화가 변화해 가는 우리 나라에서도 그 집단 발생의 위험성을 전혀 배제할 수는 없게 된 셈이다. 실제로 작년 이전에는 *E. coli* O157:H7의 발생이 없었다가, 1999년에는 서울, 부산, 경북 구미 등 3곳에서 산발적인 케이스가 조사, 보고되었다. 국립보건원을 위시한 방역방국에서 나름대로 애쓰겠지만, 많은 연구자들이 *E. coli* O157:H7에 보다 적극적인 관심을 갖게 되길 바랄 뿐이다. (김사열)

(ASM News, 66(4): 198-199, 2000 with comments)

燒酒粕의 高度利用

일본의 증류식 소주는 큐슈지방을 중심으로 생산되는 맥아 소주, 쌀소주, 메밀소주, 보리소주와 오기나와의 흑설탕소주 등 그 종류가 매우 다양하다.

증류식 소주는 술덧을 증류하여 수주원주를 얻고 상기원료의 발효잔사가 부산물로 남는다. 이 소주박은 수분이 약 90% 되는 유기물로서 부패가 쉬워 이용이 매우 어렵다. 최근에는 환경문제 때문에 소주박의 해양투기가 금지되게 되어 업계의 큰 문제가 되고 있다.

소주박은 옛날부터 밭에 뿌리거나 가축사료로 일부 이용되었으나 최근에는 농축, 건조가공되어 가축사료로 이용되는 사례가 보고되고 있으며 최근에는 고도이용과 생리활성에 관한 연구가 보고되고 있다.

古田은 보리소주박이 장내세균에 미치는 영향을 검토하여 보리소주박의 첨가에 의해 젖산균(*Lactococcus lactis*), 비피더스균(*Bifidobacterium bifidum*)의 증식이 촉진되는 것을 보고하였고, 이 효과가 에틸알콜 불용성획분(EI획분)에 존재하는 것을 확인하였다. 이 EI획분은 젖산균 중 *Lactobacillus*속에 대하여 효과가 특히 강하여 기본배지에 EI획분 1%첨가는 무첨가에 비해 3배 이상의 증식을 보였다.

또 後藤등은 보리소주박이 각종 미생물의 질소원으로 이용 가능한가를 검토하였다. 그 결과 효모, 젖산균, 비피더스균에서 종래 배양기의 대체가 가능하였으며, 특히 젖산균과 비피더스균에서는 효모엑기스와 같은 량, 균주에 따라서는 1/2량의 보리소주박으로 통상 이상의 증식을 보였다.

岩屋는 소주박 에틸알콜추출액의 항산화능력을 보고하였고 그 효과를 나타내는 성분을 원료에서 유래하는 polyphenol로 추측하였다. 최근에는 합성항산화제를 대체하는 천연물유래 항산화제가 주목을 받고 있으므로 소주박에 대한 연구가 기대된다.

林은 맥아소주박을 가축사료로 이용할 때 성장촉진인자의 추출과 박에 다량 함유된 α -tocopherol에 대해 관심을 가졌으며 맥아소주박 식이에 의해 돈육중의 α -tocopherol 함량이 2~3배 증가하였고 α -tocopherol의 항산화작용에 의해 보존 중 돈육의 지방산화가 지연되었다고 하였다.

Rat에 orotic acid를 함유하는 사료를 주면 지질대사에 변화가 생겨 간에 중성지방이 축적되고 혈액중의 지질이 낮아져 지방간이 유도된다. 望月 등은 1% orotic acid를 함유하는 사료에 보리소주박을 첨가하여 rat에 급이한 결과 보리소주박을 첨가한 구는 대조구에 비해 간중량과 간총지질량이 박첩가량에 따라 유의적으로 저하하고 반대로 혈액중의 지질저하는 회복되었다고 한다. 이 억제효과는 다른 양조부산물에 비해 보리소주박이 가장 강력하였고 orotic acid를 첨가하지 않은 기본구와 같은 정도로 지질대사의 변화가 억제되었다. 이와 같이 orotic acid의 투여로 유발되는 지방간에 대해 보리소주박이 특이적으로 억제효과를 갖는 것이 알려졌다.

이상과 같은 연구결과는 소주박에 함유되어있는 유효성분을 밝힘으로서 보다 부가가치 높은 배지성분이나 사료첨가제, 건강식품소재로서 가능성을 보여주는 것으로 소주박의 이용을 목적으로 원료, 국균, 효모 등 소주제조 연구가 소주박의 생산 목적의 연구가 되는 시대가 올지도 모른다. (안병학)

(Seibutsu-kogaku Kaishi 78: 17, 2000)

항생제 내성균 유발 난치성 질환 치료를 위한 신의약품 개발 전략

미국 FDA는 최근 Pharmacia(Peapack, NJ)의 Zyvox™을 신약으로 승인하였는데 이는 수 십년 만의 신세대 항생제로 주목받고 있다. Zyvox는 그람 양성균(G+균) 감염에 의한 질병 치료제로서 정맥주사용 및 경구투여용 제제가 모두 승인되었다. 많은 G+균은 그간 진화를 거듭하며 강력한 다중 항생제 내성을 보유하게 됨으로써 입원치료 중 동시 감염된 질병(nosocomial infections) 치료에 있어 최대의 난적으로 간주되어 왔다. Zyvox는 G+균의 분화 초기 단계에서 단백질 합성을 효과적으로 저해하는 oxazolidinone 성분의 새로운 항생제로서, 다음과 같은 치료효과가 인정되었다 한다. 1) Methicillin 내성균 *Staphylococcus aureus*에 의한 복합 및 nosocomial 피부질환; 2) Vancomycin 내성균 *Enterococcus faecium* 관련 병발성 세균 혈액침습; 3) Penicillin 반응성 *Staphylococcus pneumoniae*에 의한 결핵감염 관련 병발성 세균 혈액침습. 이번 FDA 승인은 Pharmacia & Upjohn 과 Monsanto 및 이의 Searle unit이 지난 4월 합병한 이래 첫 번째 신약승인으로 주목받고 있다.

병원성 미생물의 다중 항생제 내성 보유는 범용 항생제의 과도한 남용에서 비롯된 문제로 그 심각성은 증가 일로에 있다. 최후의 방어수단으로 고려되어 왔던 항생제들의 효능이 저하됨으로써 심각한 상태를 초래하고 있으며, 특히 일례로 *S. aureus*균의 vancomycin 내성은 계속 확산되고 있는 중이다. Pharmacia와 Aventis Pharma(Frankfurt, Germany) 등은 공격적인 연구개발로 이러한 병원성 미생물의 항생제 내성문제를

해결하기 위해 노력 중에 있는데, 특히 Aventis는 nosocomial 결핵. 또는 기타 연성세포 및 피부질환을 야기하는 vancomycin 내성균인 *E. faecium*과 기타 G+균을 target으로 항생제 개발에 전념하고 있다. 지난 9월 Aventis는 단백질 합성을 저해하는 streptogramin 성분의 항생제 신약 Synercid에 대한 FDA 승인을 처음으로 획득한 바 있다. Prokaryotic 게놈 유전자들의 호환성은 종(種) 간의 내성 유전자 교환을 가능케 하므로 항생제 개발에 있어 새로운 접근방법의 필요성이 부각되고 있는데, 일부 기업들은 미생물의 병원성 기작을 근본적으로 무력화시키는 새로운 의약품 개발 전략을 수립하고 있다.

사용량 저감이 가능한 새로운 작용기작의 항생제 개발 :

Quorex(Carlsbad, CA)는 병원성 미생물이 질병 유발을 위해 숙주세포 내에서 최소 개체수(quorum)를 이루는데 필수적인 미생물 개체간의 새로운 신호전달경로(signaling pathway)에 주목하고 있다. Quorex의 CSO인 Jeffrey Stein 박사의 말에 의하면, 병원성 미생물의 숙주세포 내 생존을 가능케 함은 물론 세포 공격용 독성물질 및 효소 생산을 매개하는 독성기작(virulence mechanism)을 활성화시키는 일종의 자가유도물질(autoinducer; 일명 AI-2) 및 이의 순환회로(AI-2 circuit)가 존재한다고 한다. AI-2 circuit은 병원성 미생물이 숙주세포 내에 정착하는데 중추적인 역할을 담당하는 것으로 입증되고 있으며, 많은 그람 음성균(G-균) 및 G+균이 이를 공유하고 있다는 것이 특징이다. AI-2 circuit은 활성물질이 미생물의 periplasm에 위치한 특정 수용체에 결합한 후 비로소 그 기능이 작동된다. Quorex의 연구진은 생체발광탐색분석(bioluminescent screening assay) 방법을 이용하여, 천연 ligand(즉, AI-2 circuit 활성화 물질)의 위 수용체 결합을 방해함으로써 독성기작 관련 특정 유전자 발현을 저해하는 유사물질들을 개발하고 있다. 이 유사물질들은 세포 내막(inner membrane)을 투과하지 못함으로써 세포 내로의 전달을 목표로 하는 많은 치료물질들이 겪는 drug-efflux pump 기작과 무관하다고 Stein 박사는 말하고 있다. 이 유사물질들의 약리역학적 기능을 향상시키기 위해 rational drug design과 더불어 HTS(high throughput screening)기법이 이용되고 있으며, 개발된 유사물질들 중 일부에 대해서는 곧 동물실험을 수행할 예정이라고 한다. Quorex는 이러한 접근방법이 미생물의 사멸 자체보다는 미생물 고유의 신호전달체계(communication system)의 교란을 목표로 함으로써 항생물질의 사용량을 줄일 수 있을 것으로 예상하고 있다.

Siga Research Lab(Corvallis, NY)의 신약개발팀장인 Hal Jones 박사는 독성 미생물이 분화, 성장하여 세포 내로 침입, 질병을 일으키기 위해서는 숙주세포 표면에 효과적으로 부착되어야 하는 것이 첫 번째 단계라고 말하고 있다. Siga 연구진은 병원성 미생물에 의한 전염 초기 단계에서 *Hemophilus*

influenza, *Salmonella spp.*, *Bordetella pertussis* 등과 같은 G-균의 표면 pili와 병원성 G+균의 표면구조물(appendages)이 이들의 숙주세포 표면부착 및 고정화에 직접 관여한다는 사실에 착안하여 pili 및 appendages 합성을 저해하는 inhibitor의 탐색 및 개발을 서두르고 있다. 항생제 내성 문제를 해결하기 위한 Siga의 접근방식은 균체 사멸과는 무관한 미생물의 감염 기작에 관련된 본질적이며 특이적인 문제를 다루고 있기 때문에 기존의 항생제와는 뚜렷히 차별되는 새로운 항생제가 개발될 수 있으며 사용량도 최소화될 수 있을 것이라고 Jones 박사는 말하고 있다. 병원성 G+균 및 G-균을 모두 target으로 하여 Siga는 현재 항생제 신약개발을 위한 assay 기술 개발에 전념하고 있으며 일년 내에 유력한 후보물질을 도출할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

항생제의 약리효능 향상 :

Inhibitex(Atlanta, GA)는 표면부착 기능물질(adhesin)에 특이적인 항체를 이용하여 미생물 표면부착을 억제하는 새로운 항생제 개발에 주력하고 있는데 최근 개발된 유력 후보물질 중의 하나인 SA-IVIG(항adhesin immunoglobulin)는 항adhesin 항체를 고농도로 함유하고 있는 인간 혈청으로부터 생산한 것으로 현재 I/II 단계의 임상 실험 진행 중이다.

다양한 종류의 펩타이드들은 병원성 미생물의 세포막을 파괴할 수 있는 기능을 보유하고 있으며 따라서 이들 펩타이드 물질들은 난치성 내성세균에 의한 전염병 치료에 있어 좀더 많은 범용 항생제들의 역할을 보완, 증가시킬 수 있는 잠재적 효능을 갖고 있는 것으로 기대된다. 이들의 세포막 파괴 관련 기작은 정확하게는 밝혀져 있지 않지만 세포막에 미세 pore 및 channel을 형성시켜 미생물의 에너지 대사에 필수적인 ionic gradient를 파괴하는 것으로 추측되고 있다. 세포막 파괴 펩타이드(lytic peptide) 개발 분야의 선두 기업인 Helix BioMedix는 합성 유사화합물들의 library 탐색을 통해 "cytoporin"이라 불리는 lytic peptide 유도체를 개발하고 있다. 일부 cytoporin들은 동물실험 결과 단독 투여 시와 기존 항생제와 병용 투여 시 모두 내성 미생물에 효과가 있는 것으로 나타난 바 있다. 이들 lytic peptide는 내성 미생물들을 사멸시키는데 있어 기존 항생제 효능을 대폭 향상시킬 수 있으며 이는 기존 항생제의 약리효과를 증가시키기 위한 병용 치료물질로 충분히 이용될 수 있음을 의미한다고 Helix BioMedix의 부사장 Henry Niman 박사는 말하고 있다. Cytoporin은 G+ 및 G- 균은 물론 곰팡이와 protozoa에 이르는 다양한 병원성 미생물들을 사멸 대상으로 한다. Cytoporin은 또한 상처부위의 collagen 응집은 물론 섬유아세포(fibroblast)와 임파구의 분화를 촉진하여 항생 효과를 보완해주는 역할도 규명되어 상처 및 창상치료제로의 개발도 기대되

고 있다.

강력한 항생제의 하나인 rifampicin은 미생물의 RNA polymerase 기능을 억제하여 광범위한 병원성 미생물에 대한 항생제로 이용되고 있으나, 이에 대한 내성 미생물의 출현이 증가하고 있는 상황이다. RNA polymerase 기능을 억제하는 다른 항생제들은 치료제로서의 사용에 다른 단점들을 지니고 있는데 일례로 actinomycin은 인간 RNA polymerase에 대해서도 활성을 나타내 치료 시 이로 인한 급성독성이 야기될 수도 있다. 이러한 이유로 인해 Tularik(S. San Francisco)는 항생제 개발 program에서 DNA 복제 및 단백질 합성 저해물질 개발과 더불어 RNA 합성 저해물질의 개발에도 그 우선 순위를 두어 추진하고 있다. 최근 미생물 게놈의 비교분석연구를 통해 미생물 성장에 필수적인 DNA 복제, RNA 및 단백질 합성과 관련된 다양한 효소인자들이 밝혀지고 있는데 이들 효소 유전자들은 인간의 유전자와는 확연히 구별되는 반면, 박테리아 내에서는 여러 종에 걸쳐 상당 부분의 염기서열이 공유되어 있는 것으로 확인되었다. 항생제로 이용될 수 있는 효과적인 신규 효소 저해제 개발을 위해서는 RNA polymerase가 매력적인 target으로 생각된다고 Tularik의 세균질병 program의 project leader인 Simon Lynch 박사는 밝히고 있다. Tularik의 연구에 있어 성공의 열쇠는 효율적인 HTS assay system의 개발에 있다고 할 수 있다. 즉, 선도물질의 효능은 cell-based 생화학적, 유전학적 검증절차를 거쳐 확인되어야 하며 특히 target으로 삼고 있는 미생물에 대한 내성 유발정도를 주의깊게 살펴 보아야 할 것이다. Tularik은 최근 새로운 RNA polymerase 저해제를 개발하여 주요 G+균을 대상으로 역가 최적화 연구를 수행하고 있다고 한다.

박테리아 게놈 Database :

Genome Therapeutics(GTC; Waltham, MA)는 항생제 신약을 개발하고자 하는 기업들을 대상으로 항생제 내성 미생물들의 게놈 정보를 모아 제공하고 있다. GTC는 *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* 등과 같은 다양한 미생물들에 대한 고급의 게놈정보를 공통의 bioinformatics platform을 통해 제공할 수 있다고 밝히고 있다. 이 기업은 최근 인간 게놈 project에 참여하면서 1,500만불의 연구비를 연방정부로부터 수주하였으며, Aventis(Strasbourg, France), Bayer(Leverkusen, Germany), Bristol-Myers Squibb(New York) 등의 기업들이 database를 제공받은 것으로 알려지고 있다. 또한 최근 *S. aureus*균을 target으로 하여 항생제 신약 개발을 위한 screening assay system 구축을 목적으로 Schering-Plough(Madison, NJ)와의 전략적 제휴와 함께 4,300만불 규모의 연구계약을 체결한 바 있다. (이지원)

(Genetic Engineering News 20(10), May 15, 2000)