



Protein Chip 이란?

대부분의 사람들은 지장의 정기검진을 통하여 본인이 미처 알지 못했던 새로운 병을 찾아 낼 수 있을 것이라고는 생각하지 않는다. 혹시나 하는 마음으로 검진을 받고 있는 것이다. 이는 진단시장에서 판매되고 있는 제품으로 인간의 질병을 조기에 진단할 수 있는 것이 별로 많지 않기 때문이다. 예를 들어 사망원인의 대부분을 차지하고 있는 심혈관계질환이나 암을 조기에 진단할 수 있는 방법이 정확도에 있어서 별로 좋은 성적을 보여 주고 있지 않고 더구나 극히 제한적이다.

유방암과 폐암은 물리적인 방법인 X-ray를 사용하고, 위암은 내시경, 그 외에 간암은 AFP라는 단백질을, 전립선암은 PSA 단백질, 방광암은 BTA 방광암 특이적인 단백질의 존재 유무를 면역학적인 방법으로 진단할 수 있다. 물론 이들 암도 조기진단이 어렵고 정확도는 50-70% 정도이다. 30-50%의 환자는 이들 방법에 의하여 진단할 수 없다. 이 몇 가지 암을 제외하고는 정확도가 높은 표지인자를 아직까지 발견하지 못해 조기 진단이 아주 어렵다. 미국에서 암 환자의 5년 생존율이 50% 이하이고 우리는 이보다 조금 낮다고 알려져 있다. 암환자의 경우 조기진단이 가능하면 생존율을 매우 높일 수 있다. 그런데 왜 조기진단이 어려울까?



최 의 열

한림대 유전공학과 교수

왜 Chip 인가?

많은 종류의 암에서 아직 특이적인 인자나 지표를 찾지 못하였다. 또한 이들 표지인자 조차도 암특이적이지 않고 다른 질환을 앓고 있을 때에도 증가하는 경우가 많다. 또 하나의 문제점으로는 예상했던 것보다 이들 특이단백질이나 인자를 이용한 조기진단방법의 정확도가 떨어진다는 것이다. 따라서 현재까지의 연구결과를 종합하여 보면 특정한 암이나 질환을 100% 정확하게 탐지할 수 있는 인자를 찾아내는 것이 아주 어렵지 않겠는가 하는 것이다. 종종 TV나 신문매체에서 암을 거의 100% 정확하게, 그것도 조기에 진

단할 수 있는 새로운 표지물질을 찾아 내었다는 보도가 나오고 있는데, 기초실험이라면 모르겠는데 많은 수의 임상실험을 진행하면 할수록 이를 증명하기가 어려워질 것으로 예상된다.

따라서 이제는 암표지인자에 대한 새로운 발상의 전환이 요구된다. 많은 종류의 암이나 특정한 암을 진단할 수 있는 유일하고 특이적인 biomarker를 찾아내고, 이 인자의 존재 유무로 암을 진단하는 기존의 방식은 이제 그만 사용하자는 것이다. 대신 다수의 표지물질의 양적인 변화를 통계학적인 방법론을 사용하여 패턴화하고 이를 암진단에 사용하자는 것이다.

이 가설을 바로 적용하고 있는 대표적인 시스템이 바로 DNA Chip이다. 즉, 암의 진행 정도에 따라 특정항원의 질적인 변화보다는 양적인 변화가 수반될 것으로 예상하고 이 변화를 측정하여 질병의 유무나 진척사항을 알아내자는 것이다. 이를 위해서는 다양한 표지물질을 동시에 빠르게 진단할 수 있는 시스템이 개발되어야 하는데, 칩시스템이 가장 좋은 선택이다. 현재 사용되고 있는 진단키트들은 한번에 하나의 표지인자를 분석하도록 고안되어 있다.

단백질칩은 DNA 대신에 다양한 종류의 단백질을 칩에 심고 이를 진단이나 연구에 활용하자는 것이다. 고집적의 단백질칩으로 수백 또는 수천개의 표지인자의 변화를 읽고, 이 변화의 정도를 생물정보학(bioinformatics)으로 분석하여, 최종적으로 정확하게 질병의 진단을 내릴 수 있게 되면 우리의 의료행위도 치료에서 예방으로 바뀔게 되며 총체적인 의료비의 절감에도 크게 기여할 것이다.

DNA chip이란?

단백질칩은 그 기본적인 개념이 DNA Chip에서 시작되었고 상용화도 DNA Chip이 먼저 되었기 때문에 간략하게 DNA Chip에 대하여 살펴보고 하겠다. 인간 게놈 프로젝트가 논란 끝에 10 여년 전에 시작되었고 작년 2000년 6월 미국과 영국이 주도적으로 인간 유전자 정보 공개하였다.

DNA Chip의 개발동기는 게놈 프로젝트를 통하여 밝혀진 8-10만개 유전자들을 한꺼번에 쉽고 빠르게 검색할 수 있는 방법의 개발의 필요성을 절감하게 되었고 기존의 방식인 Northern Blot 분석법으로는 이들 유전자를 모두 분석하기에는 거의 불가능에 가깝다. 따라서 인간게놈 프로젝트를 수행하고 있는 동안에 이들 게놈 정보를 효율적으로 사용하기 위하여, 분자생물학, 기계 자동화와 전자 제어 기술 등을 이용하여 적게는 수천개부터 많게는 수십만개의 DNA를 아주 작은 공간에 집적하는 기술을 개발하였다. 분석을 위해서는 세포나 조직 등의 시료에서 추출한 mRNA를 cDNA로 바꾼 다음 칩위에 처리하게 되면 빠른 시간내에 수많은 유전자의 변화를 알아낼 수 있게 되었다. DNA Chip은 DNA를 생물시간에 세포관찰에 사용되는 슬라이드 글래스 위에 집적을 한다. 알려진 바대로 DNA라는 물질은 유리에 잘 부착하는 특성을 가지고 있기 때문에 쉽게 고정화 할 수 있다.

DNA Chip이 미래의 유용한 기술임에는 틀림 없지만, 당장 병원에서 질병의 진단에 사용하기에는 아직까지 몇 가지 해결해야 할 문제점을 가지고 있다. DNA Chip은 주로 연구용으로는 판매되고 있고 다만 매출규모가 예상보다 훨씬 크다고 알려져 제조회사의 수익성에는 기여하고 있다. 기술적인 문제점 때문에 병원에서 진

단용으로 이용되기에는 아직 10여년 정도는 더 기다려야 할 것 같다.

Protein Chip이란?

단백질칩은 이 문제를 다른 각도에서 해결하려는 시도를 하고 있다. 조직에서 mRNA를 추출하는 대신 기존의 진단에 사용되고 있는 혈액이나 오줌을 시료로 사용하는 것이다.

혈액이나 오줌속에는 수천종의 단백질과 대물질이 녹아 있는데 이 혈액속에 포함되어 있는 biomarker를 찾아내어 이들을 진단에 사용하자는 것이다. 단백질칩은 유리나 막 위에 단백질을 고정화하고, 이 고정된 단백질과 결합하는 단백질을 탐색하는데 사용될 수 있는 새로운 개념의 칩이다. 단백질을 탐지하는데 이용될 수 있기 때문에 혈액, 오줌, 뇌척수액 등 분석을 분석할 수 있기 때문에 진단용으로 바로 이용될 수 있는 장점을 가지고 있다. 하지만 DNA Chip과는 달리 진단이나 연구용으로 사용되고 있는 고집적 단백질 칩은 아직 없다. 국내외 회사에서 개발을 진행하고 있는 것으로 알려져 있다.

단백질칩이 DNA Chip에 비하여 늦게 발전하고 있는 가장 큰 이유는 DNA에 비하여 특정 단백질의 정체를 밝혀내는 일이 쉽지 않다는 것이다. DNA 분석은 염기서열분석 기술이 빠르게 발전함에 따라 하루에도 수백만 염기를 분석할 수 있지만 단백질의 분석은 쉽지 않다. 가장 많이 쓰이는 방법으로는 원하는 단백질을 정제한 다음 트립신 같은 단백질분해효소로 적당한 크기로 자른 다음 이 조각들을 아미노산 서열분석기로 아미노산순서를 알아내는 것이다. 이 방법은 워낙 시간과 노동력을 많이 필요로

하기 때문에 정제를 하지 않고 특정단백질의 정체를 알아내는 방법이 개발되고 있다.

이 새로운 방법은 전통적인 column chromatography 대신 2차원 전기영동법으로 단백질을 분리정제하고 아미노산 서열분석기 대신에 MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) 분석기를 사용한다. 이렇게 한번에 수십 내지 수백개의 단백질을 분석해 내는 방법론을 Proteomics (프로티오믹스)라고 하며 DNA의 Genomics (게노믹스)에 대비되는 개념이다.

현재 많은 국내외 바이오텍들은 게놈 다음, PostGenomics라고 불리는 Proteomics 연구에 총력을 가하고 있는데 특히 게놈프로젝트에 주도적인 역할을 했던 Celera Genomics사가 2001년도의 주된 연구 개발 방향을 Proteomics로 바꾸었다는 것은 앞으로의 바이오산업의 방향을 잘 반영하고 있다.

단백질칩의 제조방법

단백질칩의 제작에는 단백질을 고정화시킬 기관의 선정과 고정화 방법의 개발이 필수적이다. 먼저 기관을 살펴보면, 대부분의 DNA Chip은 기관으로 슬라이드글라스를 사용하고 있지만 단백질칩은 표준화가 거의 되어 있지 않다. 단백질칩의 기관으로는 DNA Chip과 같은 슬라이드 글라스를 먼저 생각할 수 있고, 이외에 nitrocellulose, nylon membrane, 반도체칩 등을 들 수 있다.

유리기관은 먼저 DNA Chip 제조방식을 모방하여 사용할 수 있다는 장점이 있으나 DNA와는 달리 단백질은 유리에 부착되는 특성이 없다. 따라서 유리표면을 변형시켜 단백질을 부착

하여야 한다. 현재 다양한 부착방법이 있으나 가장 많이 사용하고 있는 것으로는 자기조립분자를 (Self-assembled Monolayer, SAM) 사용하는 방법이다. 먼저 유리표면에 금박막을 입힌 후 thiol 잔기를 가진 자기조립분자를 처리하면 thiol 잔기가 금과 반응하여 한 층의 분자층이 만들어지고 이 분자층과 고정화할 단백질을 공유결합으로 연결하면 또 한 층의 단백질층이 만들어진다. 금박막을 사용하지 않고 자기조립분자를 고정화한 슬라이드 글라스가 미국의 TeleChem사에서 판매되고 있는 Super Aldehyde라는 슬라이드를 사용하여 단백질의 고정화에 성공하였다는 연구결과가 최근에 사이언스지에 보고되었다. 국내외 많은 기업들이 제조에 성공했다고 하는 단백질칩이 이 회사 제품을 사용한 것이다.

기존의 막을 사용하는 방식은 항원이나 항체를 스크리닝하는데 사용되고 있다. 수천개의 항원이나 항체를 nitrocellulose이나 nylon 막에 고정화하는 것이다. 이들 막은 유리와는 달리 단백질용액을 뿌려 주기만 하면 고정화되기 때문에 유리기관에 비하여 고정화작업이 아주 용이하다는 장점이 있다. 또한 최근에는 이들 막을 슬라이드 글래스에 부착한 상품도 개발되어 판매되고 있다. 따라서 새로운 고정화기술이 별로 필요 없는 제품의 경우 이 방식도 고려해 볼 수 있다.

마지막으로 미래의 단백질칩 소재로는 가장 좋은 반도체칩을 들 수 있다. 즉 기존의 반도체 제조에 사용되어 왔던 MEMS (Micro Electro Mechanical System) 기술을 이용하는 것이다. 이 MEMS 기술을 단백질칩에 사용할 경우 저가의 칩을 제작할 수 있고 소형화도 가능하다. 복잡적이고 전자동화된 단백질칩을 사용할 경

우 판독에 필요한 고가의 장비를 사용하지 않아도 되므로 전체시스템의 소형화 또는 최소화가 가능해진다. 또한 microfluidics과 같이 발전되면 미래의 진단칩으로 상용화될 가능성이 아주 높다. 하지만 이 MEMS를 단백질칩에 이용하는 기술을 진단에 실용화하기 위해서는 장기적인 투자만이 가능하고 최소 5년 내에는 실용화 될 것 같지는 않다. 현재까지 개발된 단백질 고정화기술, 판독기술 등이 단백질-단백질 상호작용을 탐지하기에는 적합하지 않다.

Protein Chip의 목표단백질

고정화기술이 개발되면 이번에는 어떤 목표 단백질을 고정화할 것인가 문제가 된다. DNA Chip과 마찬가지로 진단이나 연구에 사용될 목표단백질을 발굴하고 집적화해야 하는 것이다. 문제는 DNA와는 달리 발굴하기도 어렵고 제조하기도 용이하지 않다. 단백질칩이 진단에 사용된다면 아마도 항체나 항원이 목표단백질이 될 것이다. 이들 항원이나 항체는 합성으로는 제조하기가 어렵고 제조하는데 시일이 많이 소요된다. 예를 들어 항체 한 가지 (단항체의 경우) 제조하는데 6개월 이상이 소요된다. 만약 만 개를 부착한다면 불가능하다는 것이다. 마찬가지로 재조합 항원단백질을 생산하는 데에는 마찬가지로 아주 오래 걸린다.

이 문제를 해결하는 방법의 하나로 재조합 항원단백질은 합성 펩티드로 대체하고 항체는 유전공학을 이용한 Phage Display Antibody를 사용하는 것이다. 현재로는 이들 대체품이 기존의 항원이나 항체를 대체하기에는 질이 아주 떨어진다.

Protein Chip 판독기술

단백질칩의 판독기술을 어떤 것으로 사용할 것인가에 따라서 칩제조 방식도 달라져야 될 것 같다. 실제로 판매되는 제품이 아직까지 없어서 어떤 판독기술이 많이 사용될 것인지를 예측하기는 쉽지 않을 것 같다. 먼저 DNA Chip 판독에 사용되고 있는 레이저 스캐너가 먼저 사용될 것으로 보여진다.

목표단백질을 형광으로 표지한 후 단백질칩에 적용하고 부착한 목표단백질을 양을 레이저로 확인하는 방법이다. 이 스캐너는 가격이 비싸나 시간이 지나면서 아주 저렴해질 것으로 예상된다.

두번째로는 SPR (Surface Plasma Resonance) 방식을 들 수 있다. 이 방식은 분석하고자 하는 항원이나 항체를 형광이나 효소로 표지할 필요가 없어 진단의 간편화에 아주 이상적이다. 현재 Biacore사에는 개발한 SPR 기기로 단백질-단백질 상호작용을 분석할 수 있다. 다만 진단에 적용하기에는 조금 시간이 필요할 것 같다.

세번째로는 앞에서 언급한 Mass Spectroscopy 방법을 이용하는 것이다. 항원이나 항체를 고정화한 후 항체와 항원반응을 MALDI-TOF이나 SELDI-TOF 같은 기기를 사용하여 분석하는 것이다. 이 방법에도 많은 회사들이 연구개발에 몰두하고 있다.

Ciphergen Biosystems이 ProteinChip™이라는 상표로 Protein Chip을 판매하고 있으나 이 칩에는 탐지용 단백질이 부착되어 있지 않다. 사용자가 표적단백질을 부착할 수 있도록 표면처리만 된 칩인데 SELDI-TOF 시스템과 같이 쓰도록 고안되어 있다. 이외에도 전기화학적인 방

식이나, Quartz Crystal Microbalance, Atomic Force microscopy 등의 방식이 연구되고 있다.

Protein Chip 해석 방식

단백질칩을 판독한 결과도 DNA Chip과 마찬가지로 방대한 자료가 될 것이다. 따라서 생물정보학을 이용한 해석이 없으면 진단이 불가능하다. 다만 DNA Chip과는 달리 목표단백질의 수가 초기에는 많지 않아서 프로그램을 개발하는 데에는 그렇게 많지 않은 시간이나 노동력이 필요할 것이다.

바이오센서와 Protein Chip

단백질칩은 바이오센서 중의 하나이지만 현재 사용되고 있는 바이오센서의 원리와 새로 개발되고 있는 단백질칩은 약간 다르다. 기존의 바이오센서는 생체 내에 있는 여러 가지 대사물질을 분석하는 센서이지 단백질을 분석할 수 있는 장치는 아니다. 구체적으로 말하면 glucose, calcium, phosphorus, uric acid, urea nitrogen, creatinine, cholesterol, triglyceride, 등의 대사물질과 total protein, albumin, bilirubin, AST, ALT, LDH, alkaline phosphatase과 같은 효소들이다. 이들 대사물질이나 효소들은 전기화학적 방법을 사용하여 측정이 가능하여 센서가 개발되었다. 실제로 미국의 i-STAT사는 소형화된 혈액분석센서를 개발하였다.

이 센스는 휴대용으로 다양한 대사물질을 2-3분 안에 분석할 수 있다. 실제로 응급현장이나 재택에서도 혈액이나 뇨분석이 가능하게 되었다. 하지만 효소가 아닌 단백질, 예를 들어 앞에서 언급한 PSA, CEA, AFP 등은 ELISA라는

면역학적인 방법으로만 진단이 가능하다.

i-STAT에서도 ELISA 방식이 아닌 새로운 방식으로 단백질을 분석하는 장치를 개발하려고 경주를 하겠지만 단백질칩이 이문제를 해결할 수 있는 방법으로는 가장 근거리에 들어와 있다고 할 수 있다. 문제는 단백질-단백질 상호작용을 전기화학적인 방법으로 분석하지 못한다는 데 있다. 만약 이 상호작용을 전기화학적인 방식으로 분석하게 되면 진단기구의 소형화가 가능하게 되어 진단시장의 대변화가 일어날 것이다.

진단시장과 단백질칩

지금까지의 진단시장을 살펴 보면, 면역진단을 포함하는 진단용 제품을 언급할 때 마다 항상 현재 시장의 규모가 타 의약품에 비하여 작다고 비판하고 있다. 이는 이 시장의 특성을 근본적으로 잘못 이해하고 있기 때문인데, 앞서도 언급했지만 현재의 진단 방법으로는 중요한 질환군을 조기에 찾을 수가 없었다. 이는 진단 기술이 없기 때문이지 진단시장이 포화되었거나 한계에 도달했다는 것은 아닌 것을 보여 주고 있다. 좀 거시적으로 내다 보면 진단시장은 아직 제대로 형성되지도 않았다고 하는 것이 적절한 표현이다. 또한 21세기의 의료행위는 지금처럼 질환이 발생한 후 치료를 하기 보다는 질병을 미리 진단하여 예방하는데 주력할 것이고 이것이 바로 게놈 프로젝트의 궁극적인 목적인 것이다.

기존의 면역진단 기술과 방법은 그 기본원리는 60년대와 70년대에 개발된 후 조금씩 개선되어 왔다. 면역진단용 RIA, ELISA, Agglutination, Rapid Test Kit. 등은 오래 전에

기술이 완성되었다. 따라서 새로운 개념의 진단 기술의 도입이 필요한 시기에 대안의 등장하였는데 그것이 바로 Genomics 결과를 이용하는 DNA Chip과 Proteomics 결과를 이용할 수 있는 Protein Chip이다.

이들 기술은 많은 수의 새로운 biomarker를 발굴하여 진단에 이용할 것이다. 이 기술이 완성되면 거대한 진단시장이 새롭게 형성될 것으로 예상되는데 약 250억분의 진단시장은 DNA Chip과 Protein Chip의 등장으로 빠르게 성장할 것으로 예상하고 있으며 포화되었다고 생각하는 진단시장의 크기를 5년 내에 2배로 키울 수 있을 것으로 기대하고 있다.