

단백질도 인공적으로 설계해 만든다

글 | 김학성 _ KAIST 생명과학과 교수 hskim76@kaist.ac.kr

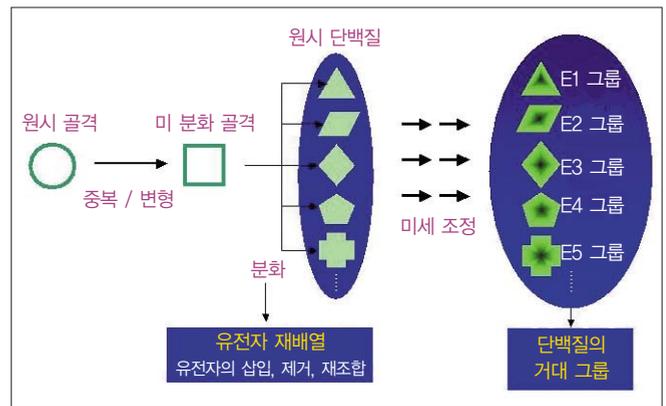
단백질은 20가지의 서로 다른 아미노산들이 펩타이드 결합에 의해 길게 연결된 생체내 고분자 물질로 생명체가 생명을 유지해 나가는데 있어 필수적인 역할을 수행한다. 예를 들어, 'TNF-알파'라는 단백질은 종양을 죽이는 역할을 하고, 소화 효소는 우리가 섭취하는 음식물로부터 우리 몸에 필요한 물질을 얻는데 필요한 각종 화학반응을 수행하고, 항체는 우리 몸에 침입한 각종 병원균을 죽이는 역할을 효율적으로 수행한다.

이러한 단백질은 질병 치료를 위한 의약품 치료제나 산업적 활용을 위한 효소로 인간의 삶에 유용하게 활용돼 왔다. 그렇지만 자연상으로 존재하는 대부분의 단백질은 생체내에서 효율적으로 작용하도록 진화돼왔기 때문에 사람이 이를 활용하기에는 적합하지 않은 특성들을 지니고 있다. 따라서 자연상으로 존재하는 단백질을 효율적으로 이용하기 위한 방법으로서 단백질에 해당되는 유전자를 변형 및 조작하는 단백질 공학의 개념이 도입되었으며, 이를 통해 많은 단백질들이 보다 인간에 유용하도록 그 기능 및 특성이 변화돼왔다.

그러나 원하는 기능과 특성을 가지고 있는 단백질을 만드는 것은 아직 실현되기 어려운 일이며, 이를 위해서는 자연상에 존재하는 단백질들에 대한 보다 많은 물리 화학적 정보와 이를 실현하기 위한 효율적인 기술과 방법이 요구되고 있다. 지금까지 원하는 목적에 맞는 단백질의 개발에 많은 연구가 진행되어 왔으며 최근에는 단백질의 진화과정을 바탕으로 한 새로운 방법들이 많이 시도되고 있다.

5만 종 이상 단백질, 기본골격 600여개로 한정돼

자연계에는 5만 종류 이상의 다양한 기능을 수행하는 단백질이 존재한다고 알려져 있다. 하지만 특이하게도 이들 단백질들의 구조는 500~600개 정도의 한정된 단백질 골격에 기초해서 이루어져



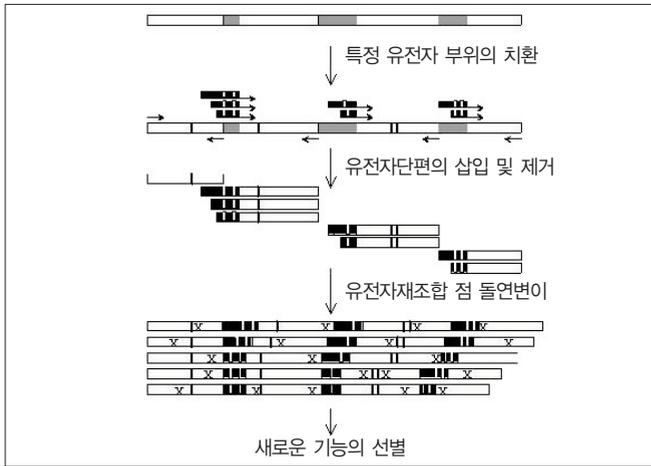
〈그림 1〉 단백질의 자연 진화 과정

있다. 현재 다양한 기능의 단백질들은 오랜 시간에 걸친 다원식 진화 과정, 즉 돌연변이와 선택의 과정을 통해서 분화되었다고 알려져 있다.

자연상에서 이루어지는 단백질의 진화는 진화 초기의 원시 골격으로부터 시작된다. 단백질 원시 골격은 유전자수준에서의 중복과 변형 과정을 통해서 여러 형태의 미분화 골격으로 진화가 이루어진다. 미분화골격은 다시 유전자의 삽입, 제거, 재조합 등과 같은 복잡한 유전자 재배열과정을 거쳐서 다양한 형태의 원시 단백질로 분화된다. 이들 원시 단백질은 구조적으로 불안정하거나 매우 약한 활성을 보인다.

원시 단백질들은 그 골격을 유지한 채로 단일 염기 돌연변이의 축적을 통한 미세조정과정을 거쳐서 지금과 같은 다양한 형태와 기능을 갖는 단백질 거대그룹이 형성되었다고 믿고 있다(그림1 참조). 자연계는 처음부터 새로운 단백질을 만들기보다는 한정된 수의 단백질 구조 골격을 이용하여 다양한 기능과 특성의 단백질을 만들어 낸 것이다.

이러한 단백질의 진화 기작을 고려할 때, 각각 다른 기능을 수행



(그림 2) 신기능 단백질을 위한 유전자 재조합 과정

하는 단백질이라 할지라도 3차원 구조의 기본 골격은 유사할 수 있고, 비슷한 기능을 수행하는 단백질이라도 그 구조는 상이한 경우도 있을 것이다. 기능이 다른 단백질이 구조상에서 비슷한 골격을 유지하고 있다는 사실은 단백질의 기능 및 특성을 변화시키는데 큰 힌트를 준다.

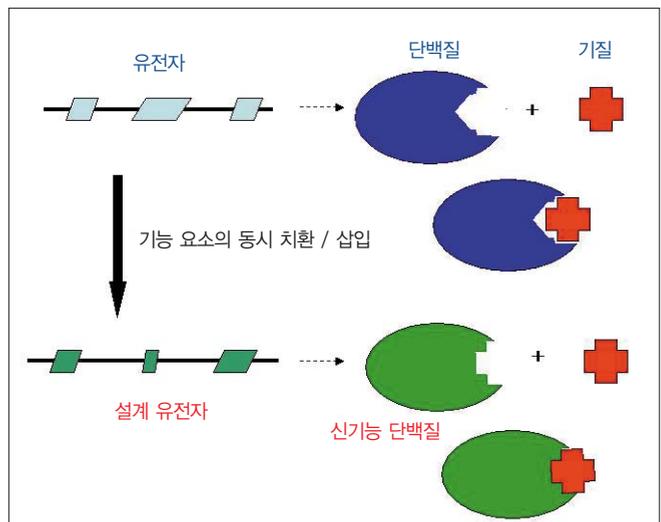
단백질이 그 특유의 기능을 발휘하기 위해서는 3차원 구조의 형성이 중요하다. 단백질의 3차원 구조는 폴리펩타이드 사슬내의 특정한 아미노산들이 도메인을 형성하면서 생성된다. 단백질의 1, 2차 구조에 존재하는 특정 아미노산들이 3차 구조를 형성하면서 공간적으로 서로 만나게 되고, 이렇게 접혀진 도메인에서는 서열상으로는 멀리 떨어진 아미노산들이 근접하면서 단백질들에서 발견되는 특이한 촉매 또는 기질 결합 부위들이 만들어진다. 이를 통해 단백질에서 활성부위나 결합부위에 작용기들이 적절한 공간적 배열을 가지게 되는 것이다.

단백질의 3차원 구조는 그 기능 면에서 중요한 역할을 하는 여러 작용 부분의 공간적 배열을 통해 형성된 활성 부위와 단백질이 안정하게 유지되도록 그 구조를 유지하는 골격 부분으로 크게 나누어 볼 수 있다. 한정된 골격을 가지는 단백질 세계에서 그보다 훨씬 많은 다양한 기능을 수행하기 위해서는 그 골격은 비슷하게 유지되지만, 특유의 기능을 수행하도록 활성 부위가 달라진 단백질의 경우가 많을 것이며, 실제로 구조가 밝혀진 단백질의 경우 이러한 사실을 확인할 수 있다. 따라서 단백질의 자연 진화적 과정과 구조적 특징을 이용하게 되면 기존의 단백질 골격에 새로운 기능과 특성을 가진 단백질을 만드는 것이 가능하다.

단백질 골격에 ‘합성 유전자’ 삽입 돌연변이 유도

본 연구진은 위에 언급한 단백질의 진화과정을 바탕으로 새로운 기능을 갖는 단백질의 설계에 관한 연구 결과를 최근 사이언스지에 발표하였다(Science, 311, 535~538, 2006). 새로운 기능을 갖는 단백질을 설계하는 방법은 다음의 여러 단계로 구성된다. 즉, 기존에 존재하는 단백질 골격에 새로운 기능에 필요한 기능요소들을 설계하는 기능요소 설계 단계, 설계된 기능요소들에 해당하는 두 개 이상의 유전자 단편들을 단백질 골격 유전자에 동시에 삽입하는 기능요소 삽입단계, 새로운 변이 유전자들이 삽입된 변이체들의 라이브러리로부터 새로운 기능을 가진 단백질의 변이체를 선별하고 그 기능을 향상 및 조정하는 개량 단계다.

이 과정을 좀더 자세히 설명하면, 먼저 새로운 기능을 부여하고자 하는 단백질의 골격을 기존 단백질의 3차원 구조 데이터베이스 및 연구 문헌을 통해서 선택하게 된다. 대상 단백질의 골격이 결정되면 이 골격에 삽입될 새로운 기능에 필요한 기능 요소를 선택하여 설계하게 된다. 단백질에서 새로운 기능을 수행하는데 필요한 요소들인 활성 부위를 구성하는 촉매 기능 부위나 기질 결합 부위, 그리고 리간드 결합 부위인 단백질 루프 구조 및 아미노산 단편과 같은 주요 부위를 단백질의 아미노산 서열 유사성 비교연구, 반응 기작 및 3차원 구조에 대한 정보를 통해서 설계한다. 설계 기능 요소는 단일 아미노산뿐 아니라 아미노산 단편 및 단백질의 2차 구조와 같이 비교적 긴 부분의 치환 및 삽입도 포함되기 때문에 구조적으로 기능적으로 단백질 골격에 상당한 영향을 미친다.



(그림 3) 신기능 단백질 제조의 모식도

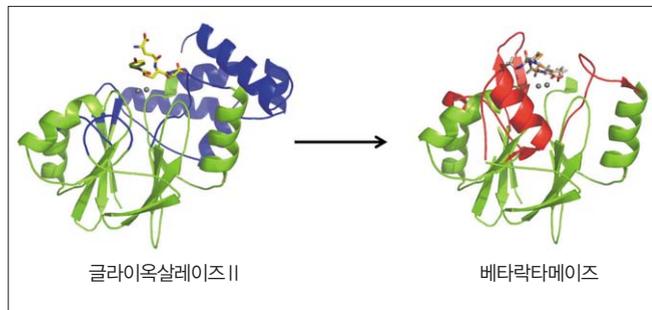
치환될 부분 중 새로운 기능에 중요한 부위의 경우에는 유사 단백질들의 아미노산 서열을 비교 분석하여 보존 부위와 임의부위가 포함되도록 다양한 길이와 서열의 변이 아미노산 단편들로 설계한다. 이를 통해 설계된 기능 요소들에 해당되는 합성 유전자를 해당 단백질 골격 유전자에 동시에 도입시킬 때 임의로 무작위의 아미노산이 삽입되도록 하면 새로운 기능 창출의 가능성을 높게 된다.

새로운 기능 요소를 삽입하기 전에 우선 새로운 기질 및 리간드에 대한 결합을 방해하거나 혹은 공간적으로 제약을 가하는 불필요한 부분을 유전자 재조합을 통해서 해당 단백질의 골격으로부터 제거한다. 다음으로, 새로운 기능에 필수적인 아미노산들은 유전자의 점 돌연변이를 통해 해당 아미노산으로 치환한다. 이렇게 얻어진 단백질 골격에 길이가 다양한 아미노산 단편 및 단백질 2차 구조 형성에 필요한 기능 요소들을 유전자 재조합을 통해 동시에 삽입, 치환한다. 이 과정 중에 전체 유전자상에서 임의로 돌연변이가 유발되도록 반응 조건을 조정함으로써 부가적인 돌연변이를 통한 새로운 단백질 기능의 변화를 효율적으로 유도할 수 있다. 이와 같은 일련의 유전자 재조합 과정을 통해서 새로운 기능의 활성 부위를 위해 필요한 기능 요소들을 임의적으로 또한 복합적으로 동시에 해당 단백질 골격에 조합적으로 삽입하여 다양한 변이체의 집단을 만들게 된다(그림 2 참조).

다양한 서열의 변이 단백질 집단 중에서 새로운 기능을 획득한 단백질은 활성도, 리간드와의 결합 정도, 형광 물질을 이용한 측정 등의 여러 가지 방법을 통해서 선별하게 된다. 새로운 기능을 가진 것으로 선별된 변이 단백질의 경우 대부분 아주 낮은 활성을 가지거나 구조적으로 불안정한 경우가 많다. 따라서 선별된 변이 단백질들은 새로운 기능의 향상 및 안정화를 위해 임의의 유전자 부위에 돌연변이를 유발함으로써 단백질의 특성 향상에 효과적인 방향적 진화 방법을 이용하여 그 특성을 개량한다. 이와 같은 일련의 과정을 통해서 기존의 단백질 골격에 새로운 기능을 지닌 새로운 단백질을 효과적으로 제조할 수 있다(그림 3 참조).

단백질 진화 과정 밝힌다

연구진은 실제로 위에 언급한 기술을 사용해서 사람의 몸에서 독성물질을 해독하는 기능을 하는 '글라이옥살레이즈 II' 골격에 베타 락탐 항생제를 분해하는 기능을 하는 '베타락타메이즈' 활성을 성공적으로 창출할 수 있었다(그림 4 참조). 이 두 단백질은 각각 다른 생명체내에서 다른 기능을 수행하지만, 그 골격 구조는 유



(그림 4) 신기능 단백질 제조의 모식도

사한 특징을 가지고 있다. 이를 바탕으로 글라이옥살레이즈 II 골격에서 4개의 단백질 루프 구조를 베타 락탐 항생제를 분해할 수 있도록 기능요소를 설계해서 이를 동시에 삽입 치환시킴으로써 새로운 기능인 베타락타메이즈 활성을 가지도록 한 것이다. 전체 단백질 구조에서 기본적인 골격은 유지한 채 기능부위에 해당되는 4개의 아미노산 단편의 루프를 삽입, 치환시킴으로써 원래 글라이옥살레이즈 II의 기능은 사라지고 새로운 기능인 베타-락타메이즈의 활성을 가지는 새로운 단백질이 제조된 것이다.

개발된 이러한 기술은 자연계에서 단백질이 진화한 과정을 단순화하여 새로운 기능을 갖는 단백질을 효율적으로 설계하고 창출하는 방법으로서, 앞으로 새로운 단백질 의약품 개발, 산업용 효소 개발, 합성 생물학, 화이트 바이오 테크놀로지, 생유기 합성 및 단백질 공학 분야에서 크게 활용될 것으로 기대된다. 특히, 단백질의 일종인 효소는 최근 선진국을 중심으로 대대적인 연구개발 및 산업화를 추진하고 있는 화이트 바이오 테크놀로지의 핵심으로 부각되어 세계적 화학 기업, 제약기업, 생명공학 기업들이 맞춤형 효소의 개발에 연구개발 투자를 집중하고 있다. 이런 관점에서 산업용 효소의 개발에도 널리 활용될 것으로 보인다.

또한, 자연계에서 단백질이 어떠한 진화 과정을 거쳐 현재와 같은 다양한 단백질이 존재하게 되었는지에 대한 중요한 해답을 줄 수 있어서 기초 생명과학 분야에서도 큰 관심을 불러일으키고 있다.



글쓰이는 서울대학교 화학공학과를 졸업하고 한국과학기술원에서 석사학위를 받았다.