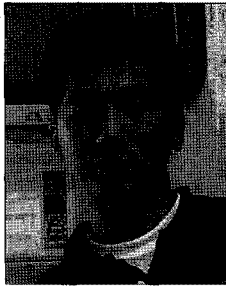


단백질 구조분석을 위한 단일단백질 생산시스템

Single protein production (SPP) system for structural analysis of proteins



영동대학교 의생명과학과
김성건
E-mail : sgkim@yd.ac.kr

2003년에 Masayori Inouye 그룹에서 대장균의 programmed cell death의 원인으로 알려진 toxin인 MazF가 세포내 대부분의 mRNA를 분해하여 세포사멸을 유도한다라는 것을 밝혀냈다. MazF는 single strand RNA의 ACA triplet 서열을 인지하여 절단하는 RNase 활성을 갖고 있고 대부분의 mRNA는 ACA 서열이 포함되어있기 때문에 대장균에서 MazF가 발현되면 cytoplasm은 mRNA free 상태가 되어 새로운 단백질이 생합성되지 않는다. 이 원리를 이용하여 목적단백질의 아미노산 서열은 유지하고 ACA 서열이 존재하지 않는 (ACA-less) 유전자를 고안 및 합성하여 MazF와 함께 대장균에서 발현시킴으로써 대장균 내에 목적단백질의 mRNA만 번역되도록 하였다. 그 결과 세포내 모든 ribosome 및 단백질합성에 필요한 전구체들이 목적단백질만 생합성에만 집중되어 목적단백질의 발현수준을 증진시킬 수 있었다 (그림 1).

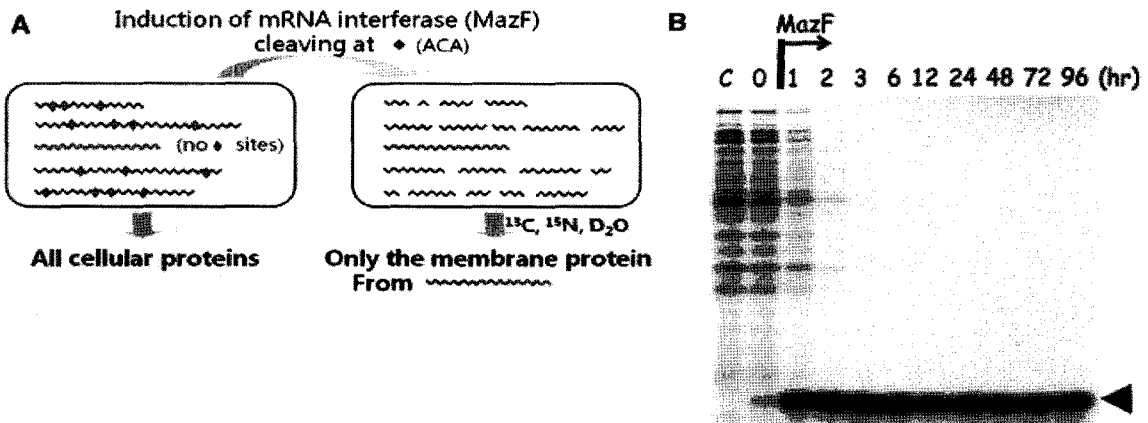


그림 1. SPP system을 이용한 막단백질 human eotaxin 발현의 모식도 (A) 및 발현결과 (B).
(출처: J Struct Funct Genomics 2010, 11:81-84)

위 기술은 Inouye 교수에 의해 단일단백질 생산시스템 (single protein production system)으로 명명되었고 여러 생명공학분야에 응용되었다. 대표적인 예로 NMR (nuclear magnetic resonance) 구조분석을 위한 동위원소로 표지된 단백질 (isotope-labeled protein)의 생산이다. 기존에는 NMR 구조분석을 위한 단백질들을 동위원소로 표지하기 위해 동위원소인 ^{13}C 와 ^{15}N 가 포함된 고가의 제한배지 성분들을 H_2O 대신 1리터당 3만원 이상인 D_2O 에 조제해 재조합대장균을 배양한 후 목적단백질을 발현하였다. 그러나 단일단백질 생산시스템에서는 대장균을 100배까지 농축하여도 목적단백질의 발현수준이 유지되었고 농축 후 동위원소가 포함된 배지로 전환함으로써 기존 방법의 1% 비용으로 동위원소 표지가 가능했다. 뿐만 아니라 막단백질 구조분석을 위한 기존 방법은 동위원소로 표지된 막단백질을 정제한 후 생체막 유사물질에 다시 가용화시키는 어렵고 복잡한 과정이 필요했으나 단일단백질 생산시스템을 이용한 동위원소 표지방법은 목적 막단백질만 동위원소로 표지되어 막분획 (membrane fraction)만 분리하여 NMR 구조분석이 가능하였다(그림 2). 또한 현재 단일단백질 생산시스템은 세포 내에서의 실제 단백질구조를 연구하는 In-cell NMR 기술에 응용되고 있다.

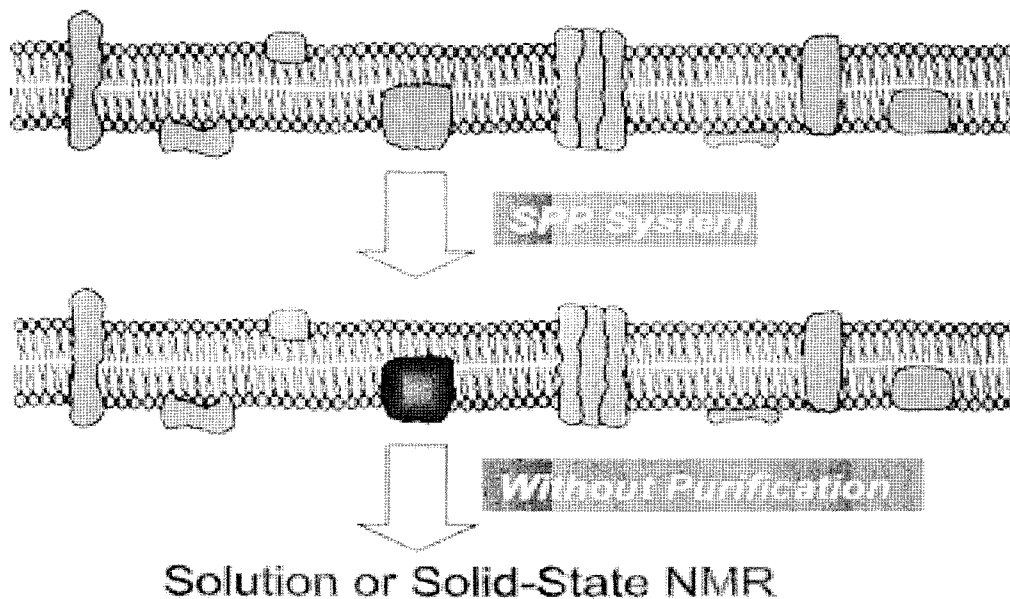


그림 2. 막단백질 구조분석을 위한 특정 막단백질의 선택적 동위원소 표지.
(출처: J Struct Funct Genomics 2009, 10:281-289)