



단백질결합 네트워크 탐색으로 신약개발 앞당긴다

21세기 들어서며 인간을 포함한 다수의 생물에 대한 게놈 해독으로 축적된 방대한 양의 DNA 배열정보를 인류의 건강과 생활수준의 향상을 위해 어떻게 결부시키느냐가 주요 과제로 대두되고 있다. 미국을 비롯한 선진국은 바이오산업을 국가전략사업으로 집중 육성하고 있으며, 특히 제약산업은 바이오산업의 핵심 분야로서 세계시장의 선점을 위한 기술 강국들의 경쟁이 심화되고 있다. 그러나 우리나라의 바이오분야 기술경쟁력은 선진국대비 60% 수준(14위)이며, 제약부문에 있어서는 경쟁력 있는 대형기업이 부재한 상태이고, 신약개발보다는 복제품 생산에 치중하여 바이오 및 제약 산업 발전의 걸림돌이 되고 있다.

게놈프로젝트(1990~2001) 완료에 따른 게놈 서열분석, 이에 따른 관련기술 개발의 가속화 및 급성장에 따라 신약표적 단백질이 현재의

500여 개에서 최대 1만 개로 증가될 것으로 전망된다. 그러나 현재 신약개발 분야의 문제점은 관련기술 및 장비의 발전과 개발비용의 증가에도 불구하고 신약개발 성공률이 떨어지고 있다. 따라서 전 세계적으로 신약개발의 경쟁이 심화되고, 신약개발의 실패에 따른 막대한 손실을 줄이기 위해 약물표적에 관한 고품질의 정보를 얻을 수 있는 새로운 기술 개발의 필요성이 커지고 있다.

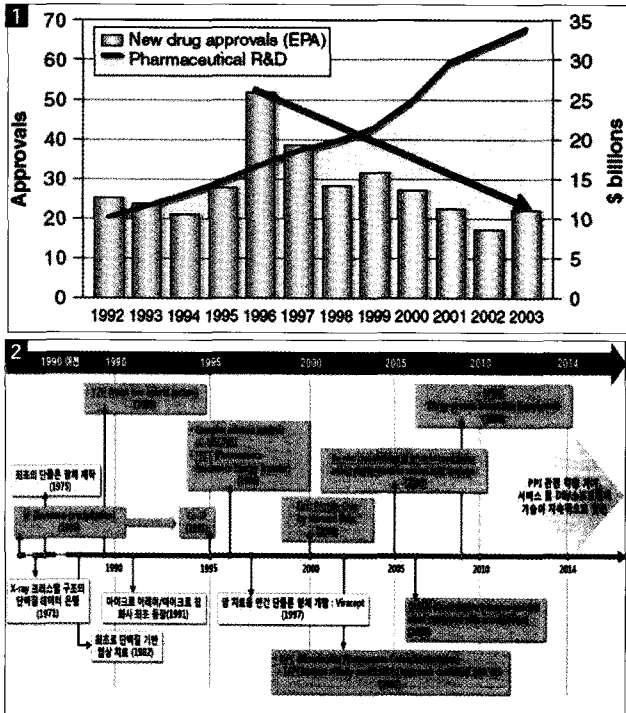
단백질-단백질 결합 및 결합 네트워크

바이오산업의 핵심 기술로 떠오르고 있는 단백질 기능 예측은 학문적 관점뿐만 아니라 바이오제약 개발의 필수불가결한 요소이다. 생명현상은 세포 내부에서 이루어지는 신호전달작에 의해 조절되며, 신호전달의 대부분은 단백질, 핵산, 이온, 탄수화물 등의 물리·화학적



글 김수현 한국기초과학지원연구원 책임연구원
shkim@kbsi.re.kr

글쓴이는 전남대학교 생물학과에서 생화학으로 박사 학위를 받았다. 한국기초과학지원연구원에서 생명과학 연구부장, 선임부장 등을 지냈으며, 현재 교육과학기술부 미래융합 융합기술 파이오니어사업의 단백질결합 네트워크 탐색 연구 단장을 겸임하고 있다.



▶▶ 1 신약개발 투입비용 대비 신약개발 효율 저하 2 단백질-단백질 결합 관련 기술 개발 동향

상호작용을 수반한다. 따라서 생체고분자물질의 기능을 규명하기 위한 첫 단계가 이들 물질 간의 결합여부 및 결합 특성을 분석하는 것이다.

단백질 결합분석을 위해 다양한 방법들이 이용되고 있다. 시험관에서 분석하는 기술로 교차결합, 친화크로마토그래피, 면역침강(IP), 형광상관(FCS), 단백질질침, X선 회절 및 자기공명(NMR), 냉동전자현미경(Cryo-EM) 등이 사용되고 있으나 이들 방법들이 가진 각각의 장점에도 불구하고 모두 생체 내의 단백질 결합을 증명하지는 못한다는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 보완하기 위해 살아있는 세포 내에서의 결합을 분석할 수 있는 방법으로 효모교잡법(Y2H), 형광재조합(BiFC), 형광전이(FRET) 등이 사용되고 있다. 그러나 이들 방법들도 각각의 장점에도 불구하고 실험의 성공확률이 매우 낮거나 위양성이 매우 높아 효율적인 결합분석이 불가능한 실정이다.

또한 위에서 언급한 단백질-단백질 결합 분석기술은 특정 단백질의 결합을 분석하기 위해 많은 시간과 노력이 필요하므로 세포 내부에서 일어나는 수없이 많고 다양한

신호전달체계를 고속으로 분석하기에는 적합하지 못한 것이 사실이다. 따라서 국내뿐 아니라 선진국에서는 생물정보학 기술을 이용하여 단백질결합 데이터베이스 및 통합적인 상호작용 네트워크 구축함으로써 네트워크상의 위치에 따른 단백질의 기능을 파악하고자 하고 있다. 대사 및 신호전달 경로에 대한 총괄적인 지도를 작성하여 이를 기반으로 질병과 관련된 표적단백질 발굴 및 신약개발을 효율적으로 진행하고자 하는 노력을 경주하고 있는 것이다.

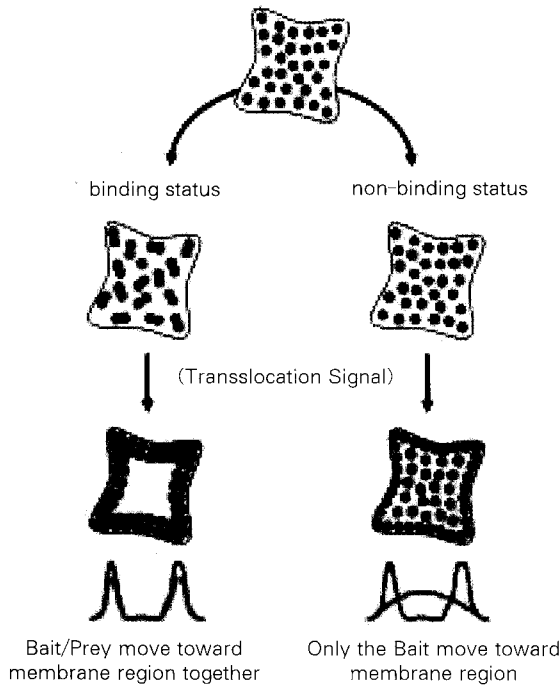
효율적인 단백질결합 분석기법 개발

단백질 결합 네트워크를 고속·고효율로 분석하기 위한 차세대 기술을 개발하기 위해 필자와 연구단은 세포 내에서 단백질-단백질 결합여부를 직접 분석할 수 있는 큐피드(CUPID) 기술을 개발하였다. 큐피드 기술은 앞에서 소개한 기술과는 달리 인간 세포주를 직접 이용하여 세포 내에서 일어나는 단백질결합을 직접 확인할 수 있는 기술로, 위양성을 최소화하고 항체가 필요 없다는 장점을 가지고 있다.

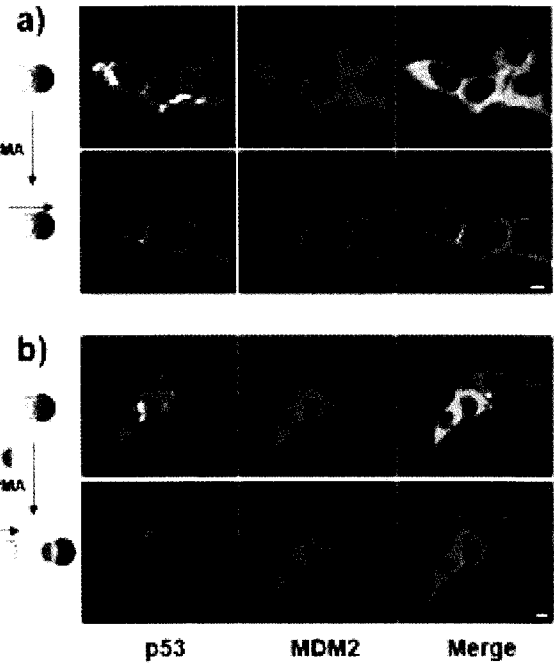
필자와 연구팀은 큐피드 기술을 이용하여 암 유발 단백질인 p53 단백질과 mdm2 단백질의 결합 및 현재 임상적으로 사용되고 있는 강력한 결합저해 항암제인 Nutlin-3에 의한 결합저해현상을 분석함으로써 단백질결합에 근거한 화합물 라이브러리 스크리닝을 고효율로 진행할 수 있음을 증명하였다. 또한 큐피드 기술을 이용할 경우, 인산화 단백질과 비인산화 단백질의 결합여부를 분석할 수 있음을 실험적으로 증명함으로써 세포 내 신호전달기작 연구의 새로운 패러다임을 제시하고 이를 이용하여 단백질결합 기반의 신약표적 발굴효율을 획기적으로 높일 수 있음을 발견하였다. 따라서 큐피드 기술은 현재까지 개발된 모든 단백질결합 분석기술에 비해 신뢰도, 성공률 등이 매우 높고, 초고속 분석시스템에 적용이 가능하여 앞으로 기초연구뿐 아니라 신약표적 발굴 및 신약후보물질 발굴 등 많은 분야에서 응용될 수 있는 핵심기술이 될 것으로 기대된다.

단백질결합 네트워크 탐색 융합 플랫폼

‘단백질 결합 네트워크 탐색 파이오니어융합연구단’에



▶▶ 큐피드 분석기술 개념도



▶▶ p53 단백질과 mdm2 단백질의 결합 및 저해제에 의한 결합저해 결과

서는 핵심기술로 큐피드기술을 이용하고, 이 기술의 효율성을 극대화하기 위해 첫째, 특정 기능성 단백질과 결합하는 미지의 단백질을 효율적으로 발굴하기 위한 인프라로서 약물표적으로 중요도가 높은 인간 유전자 중 인산화효소를 비롯하여 전사인자 및 여러 가지 발암 관련 유전자군에 대한 형광단백질 표지 라이브러리를 구축하고 있다. 단백질-단백질결합을 기반으로 한 약물표적을 발굴하기 위해서는 풍부한 라이브러리가 일단 갖추어져야 하기 때문이다. 둘째, 세포 내에 존재하는 복잡한 신호전달체계를 고속으로 분석하고 결합네트워크를 재구성함으로써 약물표적을 발굴하고 검증하기 위해 세포칩을 기반으로 한 하이컨텐츠스크리닝(HCS) 기술을 개발하고 이를 자동으로 분석할 수 있는 자동분석 프로그램을 개발하고 있다. 셋째, 현재 사용하고 있는 형광분석법을 기반으로 한 큐피드 기술은 특정 유전자의 과발현으로 인해 세포 내에 미량으로 존재하는 단백질에 대한 위양성의 가능성이 존재하므로 이를 해결하기 위해 생리적 농도에서 작용하는 기능성 단백질의 결합 네트워크를 분석할 수 있도록 나노입자를

이용한 새로운 라만 영상분석 기술을 개발하고 있다.

이러한 ‘황금알을 낳는 거위와 같은 신약개발’에 많은 다국적 제약사들은 ‘효율적인 신약표적 검증 시스템’을 위해 대규모의 투자를 통해 HCS 로봇 시스템을 경쟁적으로 구축하고 있으며, 이를 이용하여 후발주자와의 경쟁력을 확대하기 위한 전략을 구사하고 있다. 이러한 시점에서 상대적으로 경쟁력이 약한 우리나라의 경쟁력 확보를 위해 ‘BINT 융합형 세포칩기반 단백질결합 탐색기술 플랫폼’을 개발하고 있다. 이를 통한 생명과학 연구역량의 획기적인 도약을 기대할 수 있을 뿐 아니라 세포 신호전달 네트워크의 고속 탐색으로 약물표적 개발 및 신약후보물질 발굴을 일체화할 수 있다. 나아가 화합물-단백질 간의 결합분석을 통해 신규 약물후보물질 스크리닝 및 기존 약물의 효능 재해석으로 차세대 고수익 전략산업 창출에 기여하고, 동시에 단백질결합 네트워크 기반 HCS 시장의 선도적인 진입 및 첨단과학 선도국가로 발돋움할 수 있는 원천기술을 제공할 수 있을 것이다. 