

# What is protein folding in the endoplasmic reticulum associated with molecular chaperones and Why at present need its study in insects?

권 오 유

충남대학교 의과대학

유전체학 (genomics)의 급속한 발달에 힘입어 현재까지 18종의 게놈구조가 해독되었고 앞으로 5년 이내에 30종 이상의 게놈이 해독될 전망이다. 그러나 아무리 DNA염기서열을 밝혀낸다 한들 유전자들의 기능을 알지 못하면 큰 의미가 없으며 실용적으로 이용하는 것에도 많은 제약이 따른다. 이런 이유로 선진국의 여러 연구실에서는 기능이 알려져 있지 않는 유전자의 기능을 총괄적으로 연구하는 유전체기능분석학 (functional genomics)에 눈을 돌리고 있다. 지금까지의 유전자구조, 발현 및 유전자산물의 연구는 replication, transcription, translation에 중심을 두고 이루어졌다. 물론 유전자가 생물학적인 기능을 가진 단백질을 만들기 위해서는 위의 3단계가 충실하게 이루어져야 한다. 그러나 대부분의 막형성단백질과 분비단백질은 ER (endoplasmic reticulum; 소포체)이라는 소포내 소기관을 거치면서 단백질합성 후 수식과정 (posttranslational modification)을 통하여 정확한 3차구조로의 folding, 당쇄형성 및 trimming, subunit의 조합, 인산화, disulfide bond 형성이 일어나야 한다. 특정유전자에 코드되어 있는 유전정보가 단백질의 1차 구조 (polypeptide)를 형성한 후에, 어느 정도 posttranslational modification과정을 충실하게 거쳐느냐가 생물활성을 가진 단백질합성의 rate-limiting step으로 간주된다. 실제로 posttranslational modification과정에 충실하지 못한 target단백질이 un-/misfolded형태로 ER내에 축적됨으로 인하여 대상기관에 치명적인 생리적 결함을 나타낸다. ER내에서 단백질이 folding될 때에 정확한 folding/assembly를 도와주는 단백질군을 molecular chaperone이라고 하며 그 정의는 '단백질이 만들어질 때에 folding/assembly를 도와서 정확한 구조를 가진 생체활성단백질이 되도록 도와주지만 최종산물에는 포함되지 않는 단백질 군'이다. 지금까지 잘 알려진 것으

로는 GRP94, Bip, Calnexin, Calreticulin, PDI 등이 있다. Chaperone의 연구는 처음에는 주로 학문적인 흥미의 대상이었으나 유전공학과 단백질공학의 발전에 힘입어 단백질기능과 분비기전, 개체발생, 세포분화와 같은 생물학의 기본문제와 함께 기능단백질의 개발, 이종단백질 (heterologous protein)의 대량생산 등과 같은 응용적인 가능성 때문에 최근에는 세포생물학의 가장 중요한 분야중의 하나가 되었다.

인시목곤충의 세포에서 BEVS (baculovirus expression vector system)을 이용하여 각종 분비단백질과 kinase, melanotransferrin, glutamate transporter 등이 생산되고 있는 현시점에서 왜 곤충세포에서 chaperone이 관련된 posttranslational modification의 연구가 필요한가? 곤충세포에서 생산되는 이종단백질들은 효모 혹은 포유동물세포에서 생산되는 것과 동일하지 않다. 비록 이종형단백질이 BEVS에서 만들어지지만 아주 큰 장벽 (빈번하게 비수용성의 aggregate형성하는 것, ER associated 분해, 불충분한 분비량, 비록 세포 밖으로 분비되더라도 저/비생체활성을 가진 단백질을 만드는 것)을 극복해야만 성공적인 biotechnology로 정착할 수 있다. 이 문제점들의 해결책으로는 곤충세포에서 어떤 기전에 의해서 막형성단백질과 분비단백질이 만들어지는지를 규명하는 것이 전제조건이 될 것이다. 즉, 효모와 포유동물세포에서와 는 다른 곤충세포의 특유의 posttranslational modification기전을 이해하여야 한다. 실제로 정확한 기전은 이해하지 못하지만 곤충세포에서 chaperone을 이종단백질과 함께 coexpression시킴으로써 목적으로 하는 분비단백질량이 개선된 예가 보고되어 있다. 그리고 ER내의 정확한 당쇄trimming을 위하여 GlcNAc transferase I를 overexpression시킴으로써 고 활성의 분비단백질을 얻을 수 있었다. 이처럼 고 활성/대량의 이종단백질을 곤충세포에서 생산하기 위하여서는 곤충세포의 posttranslational modification기전 (곤충chaperone에 의한 folding/assembly, 당쇄형성 및 trimming, 인산화, disulfide bond 형성)을 충분히 이해한 후에 BEVS을 이용한 metabolic engineering을 한다면 목적을 달성할 수 있을 것이다. 물론 이와 같은 연구는 저 비용으로 고효성이종단백질을 대량생산하는 것과 함께 곤충세포의 단백질합성 및 분비기전을 이해할 수 있어서 곤충생리학의 연구분야에도 큰 기여를 할 것이다. 그리고, 지금 까진 baculovirus는 포유동물

세포에서 replication되지 않는다고 믿고있었다, 그러나 최근의 연구에 의하면 포유동물세포에서 BEVS를 이용하여 이종단백질을 생산할 수 있다는 것이다. 이는 응용면에서 대량의 이종단백질을 생산하는 것 이상으로 대단히 큰 의미를 가진다. 왜냐하면, baculovirus에 의한 포유동물세포내에서의 이종단백질생산에는 host의 관련 인자들이 진화적으로 친숙하지 않아서 이용할 수 없기 때문에 단지 외부도입 인자들에 크게 의존적일 수밖에 없다. 즉, 생산하는 이종단백질은 host인 포유동물세포에는 영향을 거의 주지 않고 저 수준의 발현을 지속적으로 유지함으로써 안전한 somatic gene therapy에 아주 유용하게 사용할 수 있다.