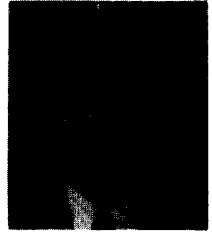


# 재조합 단백질의 생산 및 분리정제 기술

유전공학연구소 이 상 기



## 연구의 필요성

현대과학 및 공업기술의 눈부신 발전은 인류생활에 있어 물질적인 풍요를 약속하지만 부수적인 환경오염과 복잡한 사회생활로 인한 난치성 질환의 증가를 가속시키고 있다. 이에 따라 필연적으로 대두하는 문제가 난치성 질환의 치료 및 예방에 필요한 새로운 의약소재의 개발이다. 이제까지 난치성질환 치료제로 사용되어 온 항생, 항암제 등은 주로 하등생명체에서 생산, 추출되거나 화학적으로 합성된 것으로서 생산 및 치료효과에 한계를 보여 왔으나 국민의료 수준의 제고와 함께 최근 생명공학 기술 특히 유전자 재조합기술의 급속한 발전에 힘입어 새로운 고부가가치성 치료제에 대한 관심이 고조되고 있다. 이중 재조합 단백질은 유전자 재조합 기술을 활용하여 생산되는 고등생명체 유래의 유전자 산물로서 고순도, 고효율의 의약소재로 이용될 수 있어 최근 선진국을 중심으로 재조합 단백질의 개발이 활발히 추진되고 있다.

지금까지 개발이 완료된 재조합 단백질로서는 인체 인슐린, 인체성장호르몬, 인터페론, 혈전용해제 TPA, B형 간염 백신등이 있으나 이들 대부분이 외국에서 개발된 것이며 국내자체 기술에 의한 개발은 거의 전무한 실정이다. 재조합 단백질 생산 및 분리정제와 관련된 제반기술은 제품의 생산성 및 경제성을 높이기 위한 측면에서 국제적으로 계속해서 새로운 기술이 개발되고 있으나 재조합 단백질이 대부분 난치성 질환의 치료제로 사용되고 있어 제품의 임상적, 약리학적, 독성학적 시험단계가 까다로울 뿐만 아니라 FDA의 인체사용허가를 얻어 최

종제품화 단계에 도달할때까지 장시간이 걸리고 막대한 연구개발비를 투자해야 하는 것이 최대 난점이다. 이 분야에 있어서 국내기술 수준은 선진국에 비해 핵심요소 기술별로 현재 10~60% 수준에 도달해 있는 상태로써 국내기술의 최대 약점은 기술인력 및 투자재원의 부족으로 새로운 품목의 개발이 거의 불가능하고 선진국에서 이미 기술개발이 끝났거나, 앞서 개발중인 품목을 뒤따라 갈 수 밖에 없는 후발기술이라는 점이다. 이러한 측면에서 국내에서의 재조합 단백질 생산기술 개발 전략은 현재 선진각국에서 개발중에 있으나 아직 시판허가가 나지 않은 재조합 단백질중 국내자체 기술로 재조합 단백질 생산 균주가 이미 확보되어 있거나 조기확보가 가능한 차세대 재조합 단백질의 생산 및 분리정제 기술 개발에 초점을 맞추어야 할 것이다.

## 연구동향

재조합 단백질의 생산 및 분리정제 기술의 효과적인 개발을 위해서는 재조합 균주육종기술, 재조합 단백질개량 기술, 재조합 균주 대량배양 및 최적화 기술, 재조합 단백질의 대량분리 및 고순도 정제 기술을 핵심요소 기술로하여 이와 관련된 분자생물학, 유전공학, 단백질공학, 미생물학, 생물화학공학 기술이 총동원되어야 하며, 이러한 다양한 기술들의 유기적인 결합을 통해서만 성공적인 기술개발이 가능하다. 현재 이들 핵심요소기술별 기술개발 동향을 보면 유전자 재조합 기술을 생물공정기술과 연계시켜 단백질 분비를 통해 생산성 향상 및 분리정제를 용이하게 하기 위한 기술개발이 활발히 진행중에

있으며 재조합 단백질을 개량하기 위해 단백질 구조를 인위적으로 변형시킴으로써 단백질의 기능을 향상시키거나 새로운 기능을 부여하며 또한 단백질 공학을 통해 분리정제를 효율화 시키기 위한 유전자 조작 기술도 개발중에 있다. 재조합 균주 대량배양 기술과 연계시켜서는 재조합 균주의 안정화를 위한 기술개발이 중점적으로 이루어지고 있으며 고농도 균주배양을 위한 생물반응기 개발과 생물반응기 전산제어 및 최적화를 위한 소프트웨어의 개발도 활발히 추진되고 있다. 또한 단백질 대량분리 및 고순도 정제 분야에서도 새로운 기술이 속속 개발되고 있어 금속친화성 등을 이용하기 위한 단백질구조 변경이나 새로운 크로마토그래피용 담체 개발이 활발히 진행중이다.

본 중과제에 현재 참여중인 세부과제는 항혈전성 재조합 히루딘의 생산 및 분리정제기술 개발(연구책임자 : 이상기, 유전공학연구소, 참여기업 : 동국제약), 항염증성 재조합 리포코틴 생산 및 분리정제 기술개발(연구책임자 : 정봉현, 유전공학연구소, 참여기업 : 양지화학) 및 순화기질환 진단용 재조합 항체단백질의 생산 및 분리정제 기술 개발(연구책임자 :곽주원, 유전공학연구소, 참여기업 : 삼일제약)의 3개 과제이다.

히루딘은 65내지 66개의 아미노산으로 구성된 항혈전 단백질로서 의약품 거머리에서 분리되었다. 히루딘은 혈액응고 효소인 트롬빈의 활성저해제로서의 역할이 높고 부작용이 없으므로 헤파린을 대체할 수 있는 유망한 혈전방지제이나 거머리에서 추출할 수 있는 양이 극미량(거머리당 20~60 µg)이므로 유전공학적 기법을 이용, 미생물로부터 이 물질을 대량 생산하기 위한 연구가 구미각국을 중심으로 활발히 수행되고 있다. 재조합 히루딘은 *E. coli*, *Bacillus* 등을 숙주세포로 하여 생산된 예가 보고되어 있으나 원핵세포를 숙주세포로 사용할 때의 여러가지 문제점으로 인해 최근에는 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*를 숙주세포로 사용함으로써 비교적 높은 수율로 히루딘을 생산할 수 있게 되었다. 히루딘의 유전공학적 생산을 위한 유전자발현 시스템의 연구 방향은 *S. cerevisiae*의 숙주세포로서의 장점을 유지하며 발현을 및 분비율을 증가시키는 측면에서 이루어지고 있으며 그 일환으로 초분비 효모균주의 개발이 진행되고 있다. 또한 *S. cerevisiae*

시스템에 있어서의 mg/L 수준의 유전자 발현율을 메타놀자화 효모인 *Hansenula polymorpha*를 이용하여 g/L 수준으로 증가시키기 위한 연구도 수행되고 있다. 이와같이 히루딘 유전자의 효율적인 발현을 통해 생산수율을 높이기 위한 시도이외에 단백질 공학기술을 이용하여 기존의 히루딘을 기능면에서 보다 우수한 변이체로 전환시키는 연구도 활발히 진행되고 있다.

리포코틴은 항염증 치료제로 가장 광범위하게 사용되고 있는 glucocorticoid 스테로이드의 소염작용 기작의 중간물질로 추정되고 있으며 스테로이드와 동일한 소염작용을 가지고 있으면서도 부작용이 없는 물질로 알려져 있다. 따라서 리포코틴을 새로운 항염제로 개발하려는 연구들이 선진국의 우수제약 회사를 중심으로 활발히 진행되고 있다. 리포코틴은 쥐나 토끼의 복강액 또는 여러종류의 척추동물세포 등에서 분리되었고 인체 태반조직으로부터도 순수 분리된 바 있으며, 지금까지의 리포코틴에 관한 연구는 주로 인체 리포코틴의 소염작용 기작을 규명하기 위한 기초연구에 치중되어 왔다. 그러나 리포코틴의 대량생산을 위한 최근의 연구동향은 재조합 리포코틴 고발현 및 분비를 위한 대장균이나 효모 등의 유전자재조합 균주개발과 개발된 재조합 균주의 효과적인 고농도 배양 기술의 개발, 플라스미드의 안정성 향상을 위한 연구개발 등에 초점이 맞추어져 있다. 한편 생산된 재조합 리포코틴의 고순도 분리정제 기술을 위해 금속친화성 크로마토그래피를 이용한 재조합 단백질의 분리정제 기술도 개발중에 있다.

현재 전세계 사망율의 30% 이상을 차지하고 있는 심장, 순환기 질환의 간편한 진단을 위해 혈장내의 지단백질중 단백질 부분인 아포리포 단백질양을 측정하는 것이 콜리스테롤 양을 측정하는 것보다 정확한 지표가 됨이 보고되었다. 따라서 선진국에서는 이들 아포리포, 단백질 분석용 면역시약을 상품화하여 보급하고 있으나 이들은 모두 동물로부터 자연적인 방법에 의해 얻어진 폴리크로날 또는 모노크로날 항체를 사용함으로써 가격이 비싸다는 문제점이 있다. 이러한 측면에서 순환기 질환 진단용 항체를 유전자 재조합 방법에 의해 대량생산하는 연구가 국제적으로 활발히 수행되고 있다. 그러나 아포 B, 아포 A-I 및 아포(a) 분석용 재조합 단백질은

전세계적으로 아직 개발되지 않은 상태로서 현재의 연구개발 동향은 재조합 균주의 확보에 주력하고 있으며 이들 단백질에 대한 모노크로날 항체를 생산할 수 있는 세포주를 제조하고 항체유전자의 클로닝 및 효율적인 발현을 통한 항체단백질의 대량 생산에 초점이 맞추어져 있다.

### 연구전망 및 건의

재조합 단백질중 현재 시판이 허가된 품목은 10종 미만이나 앞으로 2~3년 내에 20여종이 추가될 것으로 전망되고 있다. 특히 새로운 타입의 혈전용해제, 항혈전제제, 소염제, 진단시약 제조용 항체단백질, 면역조절제, 세포성장조절 물질등이 유전자 재조합 기술을 응용해 조만간 대량생산 될 것으로 예상되며 그 밖에 암전이 유전인자, 신경성장인자, 종양괴사인자등 난치병 치료제의 개발이 뒤따를 것으로 보여 경제, 산업적으로 재조합 단백질의 국내외 시장이 크게 확대될 것으로 전망된다. 재조합 단백질의 생산 및 정제기술은 막대한 시장규모와

경제성으로 인해 세계각국에서 기술개발 경쟁이 치열하게 전개되고 있고 선진각국이 최근의 기술보호주의 및 기술패권주의 추세에 따라 우리나라와 같은 후발기술국에 핵심기술의 이전을 기피하고 있어 국내의 자체기술 개발이 없는한 선진국에서 개발된 기술의 도입은 거의 불가능한 실정이며 설상 기술 도입이 가능하다라도 막대한 기술도입료를 부담해야 한다. 특히 국내시장에서 앞으로의 신의약품 판매 양상은 외국의 제약대기업이 완제품의 형태나 국내 기업과의 합작형태로 국내시장의 독점지배를 추구할 것으로 전망됨에 따라 외국기술에 의한 기술 종속을 피하고 국내기업의 국제경쟁력 강화의 차원에서도 재조합 단백질의 대량생산 및 분리정제 기술의 국내 자체개발 능력의 향상이 시급한 실정이다. 이와같은 측면에서 본 연구과제의 성공적인 수행은 필연적인 것이며 이를 위해서는 연구에 참여하는 산·학·연 전체 연구인력의 개발성공에 대한 의지가 확고해야 하며 투입된 인력 및 재원의 효율적인 활용과 함께 정부 및 산업체의 본 연구과제에 대한 지속적인 관심과 지원이 선행되어야 할 것이다.