

## 단백질칩의 현재와 미래(2002)

김 병 기

서울대학교 응용화학부 부교수

### 서 론

필자는 한국생물산업협회에서 청탁을 받아 이와 비슷한 글을 바이오인더스트리 2000년 겨울호(제26호)에 기고한 적이 있다. 2년전 만해도 DNA 칩의 개발이 막 산업화되어 여러 그룹에서 DNA 칩을 SNP(single nucleotide polymorphism) 검증이나 세포내의 mRNA 수준을 측정하기 위해 사용해 보고자 모두들 준비를 하고 있는 상황이었으며, 단백질 칩은 개념적인 내용들만을 이야기하며 실제적으로 고속으로 항체를 개발하여 단백질 칩을 만든다는 누구나 생각할 수 있는 정도는 가능할 수 있었지만 어떤 방향으로 발전할 것이라는 것은 정확한 감이 잘 잡히지 않았다. 그러나 지난 2년동안 DNA 칩은 폭발적인 발전과 더불어 연구용이나 진단용으로 확고한 생물학의 방법론으로 자리매김하여 산업화 되었으며, 단백질 칩의 경우는 필요가 예측되던 분야에서 실제적으로 상당한 정도의 발전이 이루어져 각기의 이론을 증명하기 위한 데모정도의 결과들이 많이 발표되었다. 해서 본 글은 이런 단백질칩의 최근 동향을 소개함과 동시에 이런 결과를 바탕으로 앞으로 전개될 단백질 칩의 발전에 대한 예측을 소개하고자한다. 단지 본 잡지의 주 독자층이 전기·전자를 전공한 학도나 연구자일 것을 감안하여 너무 자세한 생물학적인 내용은 포함시키지 않고 오히려 전기·전자 공학 관련 연구자들이 역할을 할 수 있는 부분을 강조하고자 한다.

### I. 단백질칩과 DNA칩

최근에 들어서는 바이오 칩을 이용한 세포내의 유전자의 서열 분석과, 특정 유전자의 변이, 단백질의 대량 및 동시분석과 스크리닝 등의 응용 가능성이 다양하게 대두되면서 소형화 또는 집적화된 칩 표면에서의 생체분자 반응의 이용을 위한 기술 및 기법들이 다양하게 개발되고 있으며 여기에서 한걸음 더 나가 이를 Lab On a Chip(LOC)화 하여 명함 정도의 크기로 시스템화 하려는 경향이 한층 두드러지고 있다. 이와 같은 현상의 선두에는 크게 보면 두 가지의 경향으로 이야기할 수 있는데, 첫째로는, 인간게놈 프로젝트의 완성으로 이 방대한 유전 정보를 이용하여 부를 창출할 수 있는 수단으로 사용하려는 일련의 노력이 있어 각 개인의 유전정보에 근거한 맞춤 의약의 처방이나 유전병, 선천성질환, 유전적 수명 내지는 특정 유전병 발병확률 등을 진단 혹은 예측하려는 pharmacogenomics의 발전이 있으며, 둘째로는 미생물이나 인체세포에서 성장 조건인자에 따른 각 세포의 변화를 수개의 목적 유전자나 단백질의 변화를 보기 보다는 세포의 모든 유전자의 거동이나 이 유전자에서 발현되는 단백질 전체를 비교해 보려는 것이 생물학(large scale biology 혹은 macro-scale biology)적인 접근법의 발달이라고 요약할 수 있다. 대량의 유전자를 좀더 빠르게 서열분석하거나, 특정 유전자의 발현을 분석하기 위해서 유리나 실리콘 칩 상에서 다양한 방법론이 제시되었는데, 그 중 대표적인 것이 미국 스탠포드대학교 및 affyma-

trix사의 과학자들에 의해 서열 분석용(sequencing 용) DNA 칩이 있으며, 다른 한 가지는 유전자의 cDNA의 일부를 칩상에 어레이로 만들어 원하는 유전자의 발현 정도를 가늠할 수 있는 cDNA 칩이 있다. 이와 같은 DNA 칩의 급속한 발달은 우선 DNA의 두 가지 특성 때문에 가능하게 되었다 해도 과언이 아니며 이는 다음과 같다:

ㄱ) DNA는 수소결합을 통한 self-assembly (자기집합) 성질이 있다.

ㄴ) DNA는 PCR(polymerase chain reaction)이 가능해 쉽게 증폭이 가능하기 때문에 발생하는 시그널을 쉽게 증폭 확인 가능하다. 그렇기 때문에 고 집적화된 칩을 제작하여도 이의 분석이 가능하다. 대표적인 DNA 칩인 oligomer DNA chip이나 cDNA칩 등은 이와 같은 성질을 이용하여 형광물질을 DNA의 말단에 붙여 유전자 배열 및 mRNA 발현 수준, SNP(single nucleotide polymorphism), genotyping 등을 대량으로 알아낼 수 있다.

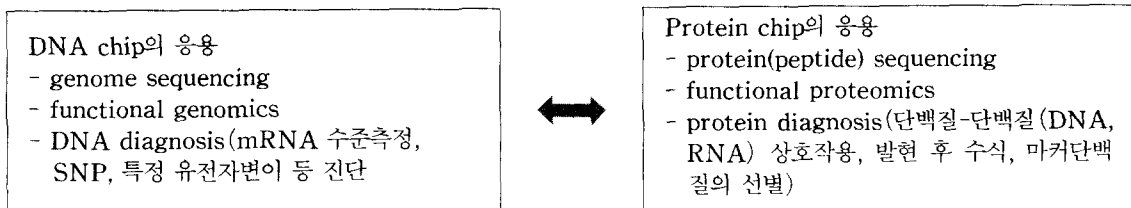
DNA 칩의 연장선 상에 서있는 단백질 칩은 DNA 칩을 통해 얻을 수 있는 유전자에 대한 정보만으로는 해독하기 힘들거나, DNA로 알 수 없는 다양한 정보를 제공해 줄 수 있다. 인체 유전자 프로젝트가 끝난 지금 인간의 세포에는 약 30,000개 정도의 단백질만을 만드는 유전자가 있다는 것을 알게 되었지만, 한편으로는 실제 이보다 훨씬 많은 단백질이 우리 몸에서 작용하고 있음을 알게되었다. 이는 동일한 유전자에서 생산되는 동일한 아미노산 서열을 가지고 있는 단백질이 수식의 정도에 따라 서로 반대 작용을 하는 경우도 있고, 전혀 작용을 하지 않는 경우도

발생하고 있다. 이와 같은 단백질의 발현 후 수식의 과정을 통한 단백질의 기능 변화 때문에 세포는 실제 가지고 있는 유전자의 개수보다 훨씬 많은(보통 10배-20배 정도로 어렵히는 것이 옳다는 견해가 많다.) 수의 단백질이 작용하고 있다는 것이다. 그러므로 이와 같이 동일한 단백질이 어떤 종류의 수식된 형태를 어느 정도 가지고 있는가를 분석하고, 수식이 다른 단백질의 정확한 기능 분석이 기능성 단백질학(functional proteomics)의 중요한 분야로 대두되고 있다. 단백질 칩은 이런 의미에서 단백질의 아미노산 서열 분석, 검증 및 정량 뿐만 아니라, 단백질-단백질(DNA, RNA)의 상호작용, 단백질 수식정도, 항원-항체 반응, 단백질의 활성측정 등 다양한 분석 대상을 가지고 있다 하겠다.

그러나 단백질 칩은 DNA가 가지고 있는 상기한 두개의 특성을 가지고 있지 않기 때문에 그의 개발이 DNA chip처럼 아주 간단하게 실현될 것 같지는 않다. 현재까지 제기된 단백질 칩 개발의 문제점을 살펴보면 다음과 같다.

ㄱ) 단백질은 self-assembly하는 성질의 부재로 인해 특정 단백질을 인지하는 분자를 개발 내지는 확보할 수 있어야 한다. 이들 단백질 인지 분자의 대표적인 예는 항체를 들 수 있다. 그러므로 고속항체 제조 및 변이기술이 선결 조건이다.

ㄴ) 특정단백질 인지분자의 부족은 결국 다른 단백질과의 비특이적 흡착을 필연적으로 내재할 수 밖에 없기 때문에 이를 극복 내지는 비특이적 결합을 차별화할 수 있는 기술이 필요하다. 이에 관해서는 최근에 특기할 만한 여러 개의 실험결과(hydrogel, hydrophobic linker, 수소결합의 공여체로 사용되는 않는 성질의 화학구조를



가진 표면등..)가 발표되어 비특이적 흡착을 막거나 줄일 수 있는 표면처리가 가능하다고 사료된다.

ㄷ) 단백질은 PCR과 같이 단백질을 증폭할 수 있는 기술을 구현하는 것이 쉽지않기 때문에 단백질 결합반응을 감지할 수 있는 수준이 미약하다(DNA에 비해 약  $10^{2-4}$ 배 정도 낮다). 그렇기 때문에 매우 낮은 농도의 단백질을 측정할 수 있는 새로운 기술이 필요하다. 이를 극복하기 위해서는 단백질의 존재 유무를 간접적인 dendrimer와 같은 다 관능기를 가진 고분자를 매개체로 하여 시그널을 증폭하는 기술이 개발되었다.

ㄹ) 단백질은 DNA와 같은 보편적인 성질이 없으며 세포내의 작용부위나 환경에 따라 매우 다른 특성을 가지고 있다. 대표적인 예가 세포질 단백질과 막단백질이라고 할 수 있다. 특히 막단백질은 수용액 상태에서 잘 녹지 않으며 이를 용해하기 위해서는 detergent를 사용하여 micelle과 같은 형태로 만들어야 하는 경우가 대부분이다. 그런데 이와 같이 detergent를 사용하는 경우는 정확히 단백질 반응을 조절하기 쉽지 않다.

ㄴ) 단백질은 DNA와 달리 시간에 따른 활성 변화가 관찰된다. 그러므로 장기적으로 단백질의 활성을 유지하는 방법과 보관하는 방법 등이 개발되어야 한다.

ㄹ) 세포내 많은 주요 단백질들은 post-translational modification 되어 있어 이들의 수식 정도 및 이형적으로(heterogeneously) 수식된 단백질의 분포를 아는 것이 매우 중요한 문제이다.

## II. 단백질칩의 개발 방향과 접근방법

상기한 단백질 칩 개발의 문제점을 고려해보면 단백질 칩의 개발 방향은 어떻게 진행될 것인지를 어느 정도 예상해 볼 수 있다. 단백질칩을 구현하기위한 세부기술을 중심으로 나누어보면 다음과 같다.

### 1. 고속항체 개발 기술

현재까지는 대부분의 경우 특정단백질의 분석을 위해서는 항체를 많이 사용해 왔기 때문에, 항체를 대체할 수 있는 새로운 분자내지는 리간드들이 신속히 개발되지 않는 한 항체의 high throughput screening(HTS) 방법이 필수적이며 고속항체선별 및 생산법이 우선 되어야 한다고 사료된다. 고속항체 생산법으로 주로 사용되고 있는 기술은 박테리오파이지, bacterial surface display를 이용하여 항체 라이브러리를 만들거나, 항체의 항원을 인지하는 부분만을 잘라서 만든 single-chain antibody 항체에서 site-directed mutagenesis 및 시험관내 진화 방법(in vitro evolution)을 이용하여 약 1달 정도만에 원하는 맞춤형체를 생산할 수 있는 기술이 현재 개발되어 있는 것으로 알려져 있다. 이외에도 동물세포주를 이용하여 단일항체를 대량제조하고, 항체를 고속스크리닝하는 다양한 기법들이 개발되어 있다.

### 2. 단백질 인지분자, 표면, 및 담체의 개발

항체의 이용이 쉽지 않은 경우는 항체의 대체 방법으로서 다양한 종류의 단백질에 친화성을 가지고 있는 물질의 이용을 들 수 있는데, 특정 단백질을 인지할 수 있는 펩타이드, 화학적 억제제(inhibitor), DNA, RNA, 지질, 탄수화물 및 디자인된 리간드 등 매우 다양한 단백질 인지분자들이 존재하고 있기 때문에 이를 적절히 사용하면 항체를 사용하지 않는 유용한 단백질 칩의 개발이 가능하다고 생각된다. 또한 이와 같은 분자 내지는 리간드, 고분자 및 금속표면 등을 사용하여 특이적 생체 친화적 표면(biomolecule affinity surface)과 더불어 원하는 기지의 단백질 이외에 다른 불특정 다수 단백질과의 비특이적 흡착 반응을 감소시킬 수 있는 표면의 개발은 단백질 칩 상에서 목적하는 단백질을 다른 단백질과 차별화 시킬 수 있기 때문에 측정을 쉽게 할 뿐만 아니라, 단백질의 특성에 따른 분리가 가능하기 때문에 특정 단백질을 검출 및 분석할 수 있는 방법의 개발이 가능하다. 이와 같은 개념은

단백질 칩을 만들기 위해 반드시 항체나 다른 단백질을 어레이의 형태로 만들어야 한다는 고정관념을 넘어 다양한 생체 분자 혹은 세포 내지는 저분자 물질로부터 단백질 칩을 만들 수 있다고 사료되며, 실제 펩타이드, 올리고 탄수화물, RNA aptamer, 올리고 DNA 등으로 단백질 칩을 만든 예가 보고되고 있다.

### 3. 특정 단백질 분리, 정제 및 농축기술

생체 내의 많은 단백질 중 2-D gel electrophoresis에서 아주 큰 spot으로 나타나는 단백질들은 대부분 생체를 이루는 기본이 되는 단백질로써 잘 알려진 단백질이고, 현재의 기술로도 쉽게 대량고속분석이 가능하다. 그러므로 미래의 단백질 칩에서 관심을 가지고 개발하고자 하는 기술은 세포에서 아주 극소량 존재하는 발현조절 단백질이나 시그널 전달에 관여하는 등의 평상시에는 매우 낮은 수준으로 발현되며 특정조건에서 유도되는 단백질이거나, 단백질의 발현 후 수식을 통해 생체내의 신호전달이나 대사의 조절에 관계한 단백질이 많기 때문에 이들을 가능한 모든 수단을 동원하여 미량을 고속으로 분리, 정제 및 농축하는 방법을 단백질의 존재 유무나 반응의 정도를 측정할 수 있을 수준까지 향상시키는 기술이 필수적이다. 현재까지는 단백질의 특성을 이용한 분리정제 기술, 단백질의 특정아미노산에 tagging molecule을(예 : biotin, streptavidin, radiolabelled acylation, ICAT reagent를 이용한 cystein modification, phosphorylation, DNA 등) 연결하여 한 스텝에 농축 및 측정을 동시에 가능케하는 기술 등이 개발되고 있다. 특히 동물세포나 혈액에서의 특정 단백질의 분석을 위해서는 body fluid에 가장 과량 존재하는 인체 알부민을 쉽게 제거하는 기술 개발도 매우 중요한 것으로 알려지고 있다.

### 4. 단백질 반응 측정 및 검증기술

항체나 인지 분자들에 의해 포획된 목적 단백질은 그의 활성이나 단백질의 검증을 할 수 있어야 한다. 상기한 DNA와는 다른 단백질의 특성

때문에 시스널의 증폭이 힘들기도 하거니와, 칩상에 소형화되어 있기 때문에 결합이 제한되는 소량의 단백질을 분석해야 하기 때문에 단백질의 존재유무 확인 및 정량이 쉽지 않다. 현재로서는 형광분석법을 통한 단백질의 반응 내지는 결합 유무, 시그널을 증폭하여 가시광선/U.V로 측정(science(2000), vol.289, pp1757), 단백질 반응을 전자의 흐름변화로 전환시켜 전류를 측정, 질량분석기를 통한 단백질의 분자량 확인 및 아미노산 서열의 확인(혹은 펩타이드 mapping), piezoelectric 방법을 통한 단백질 분자의 분자량 차이를 통한 결합 유무의 측정, microcalorimetry를 이용한 단백질 분자의 반응열을 측정하여 분자의 결합 내지는 반응을 검증, AFM 등을 통해 표면의 변화와 표면 두께 변화를 측정하는 방법등이 사용되고 있다. 가장 많이 사용되고 있는 두개의 방법으로서, 형광분석법에서는 효율성이 높은 형광염료의 개발, wave guide chip을 이용한 형광 민감도의 증대, mesoporous한 물질, dendrimer 및 quantum dot 등을 이용한 tagging된 단백질의 형광시그널 증폭 등을 통한 간단한 이미지 프로세싱 방법 등이 개발되고 있으며, 질량분석법에서는 surface plasmon resonance와 질량분석기를 동시에 사용하여 목적단백질의 결합동력학적 분석과 동시에 질량분석을 할 수 있는 방법, MALDI-TOF-TOF 등을 사용하여 목적 단백질의 존재유무를 직접 칩상에서 분석할 수 있는 것은 물론 아미노산 서열을 확인하여 검증하는 작업까지를 동시에 수행하려는 방법, 다양한 단백질 분리 표면을 사용한 목적 단백질의 효율적인 분리와 질량분석기를 사용한 검증방법 등이 개발되고 있다.

### 5. 단백질 안정화 및 활성유지 기술

소량의 단백질 및 그의 반응을 측정하는 기술은 어떻게 보면 단백질의 안정화와 활성유지 기술의 개발과 밀접하게 관련되어 있다. 그러나 안정화와 활성유지 기술은 단백질 칩의 대중화와 산업화 관점에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 칩의 보관 기간과 사용되는 단백질의 양에

직접적인 영향을 미치기 때문에 경제성과도 직접적인 관계가 있다. 단백질의 안정화와 활성유지를 위한 방법으로는 적합한 리간드의 개발을 통한 단백질 칩 표면개질로 최적 활성의 유지, 수분함유량의 조절, 산화 및 환원을 조절할 수 있는 분위기 조성 등이 있다. 특히 막단백질이나 조효소를 필요로 하는 단백질의 경우 활성 유지를 위해 지질 이중막 내지는 단층막 또는 dextran과 같은 고분자 막의 개발, hydrogel을 통한 단백질의 최적 pH 및 수분함량 조절, 단백질 칩의 보관 기술 개발등을 들 수 있다. 최근들어 hydrogel을 사용하는 방법이 단백질의 활성유지에 탁월한 효과가 있다는 결과가 연이어 발표되고 있어 주목된다.

#### 6. 소형화와 LOC 기술

지금까지의 단백질 칩은 대부분이 단백질 칩 자체의 응용성 내지는 성능을 보여주는 일에 집중되어 있었다. 이는 측정장치의 소형화와 단백질 칩을 샘플 내지는 반응용액, 세척용액 등과의 접촉과 이의 연계까지를 생각하고 디자인된 단백질 칩은 거의 전무하다고 이야기할 수 있다. 그러므로 앞으로는 이를 명함크기의 칩과 손바닥 정도의 측정기구가 장착된 일체화된 시스템으로 만드는 기술이 필요할 것이라고 사료된다. 이와 더불어 요즈음과 같이 codeless 무선통신이 추세인 경우 단백질 칩에서 읽은 개인의 정보가 병원과 연계된 의료시스템과 자연스럽게 연결되고 데이터 베이스를 구축하고, 검사 결과를 해석할 수 있어 개인이 언제나 원하는 장소에서 필요한 검사나 실험을 할 수 있는 소형화와 실험분석실을 칩에서 구현하는 기술이 필요하게 될 것이다.

### III. functional proteomics 및 metabolomics 시대의 단백질 칩

현재 단백질 칩을 바라보는 여러가지 시각이 있지만 앞서 이야기한 바와 같이 많은 경우 DNA

microarray와 관련하여 미래를 생각하게 된다. 그러나 약 3만개에 이르는(발현 후 수식을 생각할 경우는 그의 10배인 약 30만개에 달하는) 세포내의 단백질을 DNA chip과 같이 하나의 칩에 집적화 시키는 형태의 단백질칩으로 발전하지는 않을 것이라는 공통적인 의견이 주목을 끈다. 크게 발전 방향을 두 가지로 보면 고전적인 진단 시약류의 ELISA plate 대체 상품으로서의 용액 내지는 시료를 spotting하여 어레이 형태로 만든 단백질 칩과 새로운 개념의 단백질 칩으로 나눌 수 있다고 생각되는데 후자의 경우 아직까지는 초기 단계이지만 이미 개념 정립은 많이 되어 있다고 생각한다. 그러나 실제적으로 항원-항체 반응을 이용한 단백질 칩 이외에는 광범위하게 보편적으로 사용되는 개념이 많지 않기 때문에 그의 발전 가능성은 무한하다고 할 수 있겠다.

#### 1. ELISA plate의 소형화-단백질 어레이형

이 경우는 가장 쉽게 생각할 수 있으며 상기한 바와 같이 진단용으로 많이 사용되는 ELISA plate를 이용한 항원-항체 반응의 소형화와 대체 방법을 개발하는 수준의 단백질 칩이라고 생각된다. 주로 ELISA plate에서 최적화된 항체-항원 반응을 표면 개질된 실리콘이나 유리표면에 microarray화하여 ELISA plate를 대용화하는 개념이며, 여기서 한단계 더 발전된 형태로는 제약 스크리닝이나 단백질 프로파일링에 사용될 수 있는 영국 캠브리지 대학의 MRC에 있는 미국의 Zyomyx 사의 단백질칩 경우를 들 수 있다. 이 회사는 아직 정확히 밝혀지지 않은 특수한 고체상 표면의 개질 방법을 통해 25개의 단일균항체를 어레이 형태로 만들어 성공하였으며, 현재는 10,000개의 항체를 1cm<sup>2</sup>의 표면적에 올리는 정도의 수준에 있다고 보고하고 있다. 이와 비슷한 개념으로 하버드 대학교의 Gavin MacBeath 및 Stuart Schreiber 교수팀은 science 잡지에 (vol.289: 1760; 8 Sept. 2000) 유리 슬라이드에 10,000개의 단백질 microarray를 만들어 보여 주었지만 이 경우는 아직 수개의 단백질만을 연속으로 표면에 점적하여 칩 형태로 만들었

다는 보고이지 다른 종류의 단백질 10,000개를 칩 형태로 만들어 각 단백질의 기능 및 활성을 보여준 예는 아니었다. 또한 효모의 단백질 거의 전체를(5800개)를 모두 한 개의 칩위에 spotting 하여 단백질체 연구를 통해 목적 단백질과 결합하는 단백질을 스크리닝하는 연구를 수행한 예도 보고되었다(science(2001), vol.293, pp2101). 가장 최근(science(2002), vol.295, pp.1702)에는 역시 같은 저널에 dip-pen nanolithography 방법을 이용하여 나노 패턴을 만든 후에 주변을 비특이적 흡착을 막기 위한 표면처리를 통해 나노패터된 단백질칩의 모델이 발표되었다. 만약 이와 같이 세포 내 모든 단백질을 망라한 반응이 불가능하다면 아마 기능별로 비슷한, 아니면 세포 내 단백질이 위치하는 부위가 비슷한 단백질들을 한데 묶어 놓은 단백질칩의 개발이 가능할 것이라고 사료된다. 국내에서는 서울대학교의 김선영 교수팀이 유리표면에 여러가지 간염 및 바이러스성 질환을 한꺼번에 검사할 수 있는 단백질 칩의 개발이 보고된 바 있으며, 현재 국내 십여개의 회사(예: 프로테오젠, 바디텍 등 주로 항원 항체 반응을 이용)에서 진행되고 있는 많은 연구가 이 범주에 속한다고 할 수 있다.

## 2. 새로운 개념의 단백질 칩과 그의 응용

functional proteomics에서는 단백질간의 상호작용과 결합 complex의 형성, 발현 후 수식의 정도(대부분의 경우 phosphorylation과 당 수식)와 단백질의 기능, 유전자(DNA)와 단백질의 작용과 결합정도, 세포의 성장과 분열에 관계한 저분자 화합물의 스크리닝 및 세포 추출액을 통한 특수 조건의 경우 단백질 프로파일링 등 다양한 단백질의 특성을 분석할 수 있는 개념의 단백질 칩은 대중성이 커서 의료용으로 대량 사용되지는 않을런 지는 모르지만, 연구용이나 특수 세포 현상의 진단 아니면 제약회사의 신약 개발 및 리드 화합물 스크리닝용으로 큰 중요성을 가지고 있다. 또한 proteomics후에 전개된다고 예상되는 metabolomics 시대에는 많은 단백질의 네트워크 구축 및 신호 전달 체계나 대사과정

관계한 단백질군의 발현과 기능, 아니면 전체적으로 세포의 반응을 관장하는 조절단백질의 영향 및 조절기구 등을 연구하고 많은 genome sequencing이 끝난 박테리아나 동·식물의 단백질을 비교 및 이해하기 위해서는 항원 항체 반응만을 이용하지 않는 다양한 개념의 단백질 칩을 생각할 수 있다고 예상되는데, 아직 초기 단계이기도 하지만 무한한 아이디어의 구현이 예상되므로 이를 어떤 경향이나 몇 개의 그룹으로 나누어 설명하는 것이 부적절하다고 생각된다. 해서 현재까지 보고되거나 알려진 단백질칩 및 이의 구현 방법으로서 상기한 3-1 그룹에 속하지 않는 예를 간단하게 요약하면서 이 글을 마무리하고자 한다.

1) SELDI(surface enhanced laser desorption/ionization)-MS: 기본적으로는 MALDI-TOF와 동일하여, 단백질칩에서의 포획된 분자를 직접 질량 분석기로 분석하여 분자량의 차이로 해당 분자를 분석하는 방법이나 Ciphergene사에서 개발된 바이오 분자를 선택적으로 분리할 수 있는 특수표면의 스트립을 통하여 분자의 이온화를 도와준다고 알려져 있다.

2) BIA(Biomolecular Interaction analysis)-MS: BIA는 단어는 주로 Biacore(Upsala, Sweden)라는 기계 이름을 대신하기도 하지만 단백질의 상호작용을 측정하는 기법으로서 surface plasmon resonance를 이용한 분자의 결합을 정량적으로 측정할 수 있어 표면에 포획된 혹은 상호작용을 하는 단백질의 존재 유무 뿐만 아니라 반응 동력학을 측정할 수 있다. 이후 단백질 칩에 결합된(혹은 포획된) 단백질을 MALDI-TOF의 Target으로 놓고 직접 단백질을 분석하는 방법을 이야기한다. 이 방법을 사용하면 다양한 단백질 칩의 제작이 가능하고 현재 Pharmacia사에서는 이를 이용한 단백질 칩이 시판되고 있다.

3) mRNA-protein conjugate를 이용한 단

백질 칩 : 극소량 만이 발현되는 단백질들의 감지도를 증폭 cascade를 통해 높이고, 단백질의 프로파일링을 가능케하기 위해 시험관 내 발현시스템(in-vitro translation system)을 사용하여 리보솜에서 생기는 mRNA를 amino-acyl puromycin을 사용하여 발현을 중지시켜 단백질의 C-말단기와 연결하여 접합된 mRNA 부분을 통한 PCR 증폭이나 affinity 상호작용 등을 이용할 수 있는 단백질 칩 기술이 미국의 Phyllos 사에 의해 개발되었다.

4) aptamer (peptide, DNA oligomer, RNA oligomer)를 이용한 마이크로 어레이와 질량분석기, 형광분석기를 이용한 단백질 칩 : 항체 대신에 바이오분자에 친화력이 있는 RNA aptamer (science(2000) vol.287, pp820), 혹은 유전체 데이터 베이스로부터 단백질을 생산할 수 있는 프로모터의 upstream 영역 서열을 한데 모아 DNA array로 만들어 transcription factor (e.g., Zinc Finger 단백질(PNAS(2001), vol. 98, pp.7158))등을 스크리닝 할 수 있는 DNA 올리고머칩, kinase나 phosphatase 등에 친화력이 있는 올리고 펩타이드를 어레이 형태로 만들어 이들 단백질의 기질 내지는 억제자를 스크리닝하기 위한 펩타이드칩(Nature Biotechnol. (2002), vol.20 pp.270)등 다양한 예가 선보이고 있다.

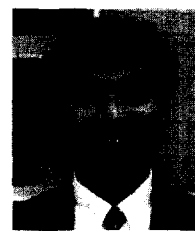
5) 탄수화물, 지질(혹은 리포솜)을 이용한 단백질 칩 : 4)과 마찬가지로 단백질과 친화성이 있는 탄수화물, 혹은 phospholipid에 선택성을 보이는 phospholipase, 혹은 막단백질(JACS, 2002, March, Web edition)등을 스크리닝할 목적으로 상기 화합물을 spotting이나 링커를 통한 고정화로 만든 어레이를 이용해 단백질 분석이나 스크리닝을 시도하려는 칩.

6) 효소를 이용한 반응용 단백질 칩 : 미국 버클리 대학의 D. Clark은 sol-gel의 상변화가 되는 organosilicate를 유리표면에 패던후 이를

고상화하여 유리 표면에 실리카 dot가 새겨진 효소 단백질 칩을 만들어 효소의 스크리닝 및 반응 진단에 사용하였으며(Biotechnol. Bioeng. (2002), Feb.), RPI의 J. Dordick교수 등은 유리표면에 연속 반응이 가능한 모세관을 연속으로 만들어 고정화 효소의 연속반응을 볼 수 있는 단백질 칩을 선보이고 있다.

7) 기타 단백질 칩 및 LOC 개념이 가미된 칩 : 이외에도 다양한 세포성장인자, 매트릭스 단백질, 인터루킨 등의 단백질의 정확한 패턴을 통하여 세포 사멸이나 시그널전달패턴 등을 살펴본 시도가 있었으며, Nanogen과 같은 회사는 단백질상호작용이나 반응을 전기적인 신호로 전환할 수 있는 칩을 fabricate하여 상품화 하였다. Agilent, Caliper사 등은 모세 영동과 LOC를 이용하여 단백질 및 DNA를 분리정제할 수 있는 플라스틱과 유리칩을 만들어서 앞으로의 단백질 분리 정제가 가능한 시스템의 모델을 선보였다.

## 저자 소개



金秉祺

1958년 2월 19일생, 1980년 서울대학교 공과대학 공업화학학과 졸업, 1982년 서울대학교 공과대학 원 공업화학학과 석사, 1989년 코넬대학교 박사(생물공학전공), 1988년~1991년 : 미국 제넨코 인 터내셔널 선임연구원, 1991년~현재 : 서울대학교 유전공학연구소 및 공과대학 응용화학부 교수, <주관심 분야 : 바이오촉매, 질량분석기술을 이용한 단백질칩, 단백질 분석기술>