박테리오파지 세계연구동향에 대하여

김 애 란
농림축산검역본부 세균질병과
수의연구사
aerankim@korea.kr

서론

세계적으로 슈퍼박테리아 치료제로 박테리오파지(bacteriophage)에 대한 관심이 커짐과 더불어 최근 박테리오파지에 관한 다양한 연구가 이루어지고 있다

박테리오파지란 박테리아(세균)를 숙주로 하는 바이러스를 통칭하는 말로, 간단하게 파지(phage)라고 하기도 한다. 1915년 영국의 프레데릭 트워트와 1917년 프랑스의 펠릭스 데렐이 박테리아를 파괴하는 바이러스인 박테리오파지를 발견하였으며 박테리오 파지란 '박테리아 포식자'라는 뜻으로 가장 큰 박테리오파지의 크기가 약 1 마이크로미터 정도로 박테리아의 500~600분의1 정도이다 (그림1, 그림2).

박테리오파지는 박테리아를 숙주세포로 삼기 때문에, 주로 박테리아가 발견되는 곳은 어느 곳이든 존재한다. 특히, 세균이 많이 번식하는 토양, 물, 하수 및 체내 장관계에 많이 분포하는 것으로 알려져 있다. 박테리오파지는 특정 박테리아에 선택적으로 감염되는데, 이는 특이 박테리오파지의 미부섬유(tail fiber)가 박테리아에 특정 막 단백질, 일종의 리셉터 단백질에 특이적으로 접착해야 감염이 가능하기 때문이다. 일부 박테리오파지는 단 한 종의 박테리아만 감염시킬 정도로 특이성을 가지며, 여러 속을 감염시킬 수도 있으나 이 경우 역시 숙주가 되는 박테리아들은 계통학적으로 밀접하게 연관되어 있다 (그림 2).

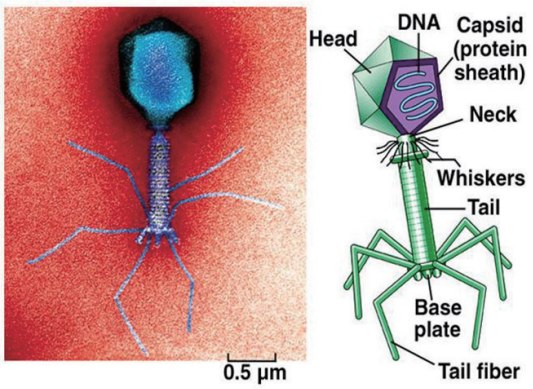


그림 1. 박테리오파지의 형태

그림출처 : Department of Microbiology, Biozentrum, University of Basel/ Photo Researchers, Inc.,

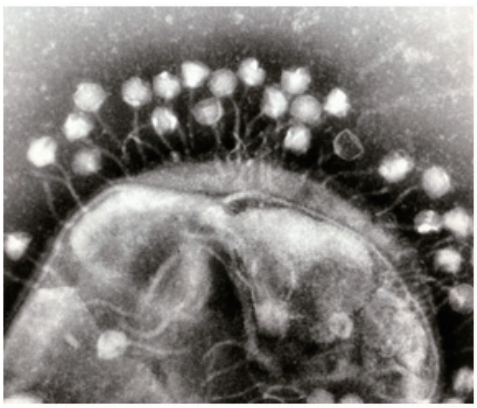


그림 2. 세균표면에 부착한 박테리오파지

그림출처 : Dr. Graham Beards Oct. 2008.

박테리오파지의 생활사는 용균성 생활사(lytic cycle)와 용원성 생활사(lysogenic cycle)로 나누며, 용균성 생활사를 반복하는 박테리오파지를 독성 파지라고 한다. 용균성 박테리오파지는 박테리아의 세포막에 부착하여 감염 후, 자신의 유전자를 합성하고 생성된 효소로 박테리아의 세포벽을 분해하여 밖으로 방출된다. 용원성 박테리오파지는 유전물질이 숙주세포로 유입된 후 바로 박테리오파지를 증식시키지 않고 숙주세포의 DNA에 포함되어 있는 형태로 존재하며, 이렇게 삽입된 박테리오파지의 유전물질을 프로파지(prophage)라고 한다. 용원성 파지는 자신의 핵산을 숙주세포의 염색체에 편입시켜 세포와 함께 복제되며, 일정 조건하에 용균성으로 전환한다 (그림 3).

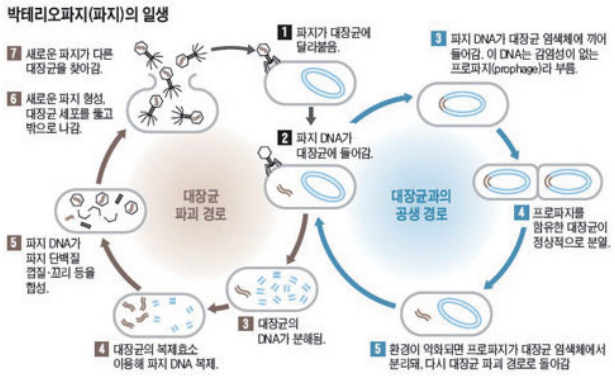


그림 3. 대장균 특이 박테리오파지의 두가지 생활

박테리오파지는 독성 파지의 살균능력에 힘입어 1920년대부터 천연 항생제로 사용되었으나 1940년대 초반 페니실린의 대량 보급, 파지의 보관 및 저장의 불편함으로 인해 대중의 관심에서 멀어졌다. 박테리오파지의 경우 특정 박테리아에만 작용하기 때문에 환자 별로 원인균을 파악하고, 감수성 있는 파지를 찾아 치료해야 하는 번거러움 또한 박테리오파지의 퇴출을 앞당긴 요인이었다. 그러나 의료시설이 상대적으로 열악한 구소련 및 동유럽국가의 일부 학자들은 파지 치료법을 계속 연구하였고 치료에 사용하였다. 1990년대 이후 항생제에 내성을 가진 세균이 문제시되면서 박테리오파지의 잠재력은 다시 주목 받게 되었으며 최근 박테리오파지의 특성 및 효용성을 이용하여 치료제로 연구뿐 아니라 진단으로 이용 등 다양한 연구가 진행되고 있다.

인체 치료제로 파지연구

조지아 Eliava 연구소는 병원균에 대한 파지의 분리 및 연구에 초점을 맞춘 기관으로 세계에서 파지를 이용한 치료에 가장 유명한 기관이다. Eliava 연구소는 동유럽 및 구소련 국가에서 대량의 파지를 분리 및 분양 받아 수만 명의 사람들에게 파지를 이용한 치료를 수행하였으며, 2010년에서 2013년까지 950여명의 환자가 특이 파지를 이용한 치료를 받았다. 증상별로는 피부감염, 설사, 요도감염 등이 있으며, 병원균별로는 대장균증, 포도상구균 감염증, 클렙시엘라 감염증 등이 주를 이루었다 (그림 4, 5). 2011년도, Eliava 연구소는 자체적으로 'Eliava 파지 치료 국제 교류 센터'를 설립하여 조지아 국민 및 외국인에게 광범위한 외래 치료를 제공하고 있으며 다양한 임상시험을 준비하고 있다.

유럽의 경우 제 7차 연구개발 유럽 프레임 워크 프로그램(EU FP7)중 Health program의 하나로 화상환자에 대장균과 슈도모나스 치료제로 박테리오파지를 사용하는 PHAGOBURN 연구 프로젝트를 진행하고 있다. 최근 다국적 기업인 네슬레 등 또한 파지를 이용한 설사치료제의 임상시험을 방글라데시에서 진행 중으로 파지를 이용한 인체 치료제가 곧 허가 및 시판될 것으로 생각된다.

그림 4. 세균배지에서 용균 현상을 일으킨 박테리오파지 (Plaque assay),

그림출처 : Eliava Institute hompage

그림 5. Eliava 연구소 치료용 박테리오파지 앰플
그림출처 : Eliava Institute hompage

농업 및 축산업에서 파지

파지의 농업 및 축산업에서의 이용으로는 병원성 세균의 제어를 통한 질병방제, 농식품의 안전성을 확보하기 위한 식중독 세균의 저감화 기술개발, 부패세균의 제어를 통한 식품의 신선도 유지와 같은 분야에 활용될 수 있을 것이다. 생명공학 기업인 인트라리틱스는 지난 2006년 식품첨가물에 식중독 원인균인 리스테리아를 억제하기 위한 박테리오파지 스프레이인 ListShield의 판매 허가를 미국 FDA로부터 받았으며 (그림 6), 그 후 살모넬라 및 장출혈성 대장균 O157:H7 특이 박테리오파지 제품허가를 추가로 취득하였다. 국내의 경우, 살모넬라 억제를 위한 파지혼합제인 '벡터페이즈 (씨티씨바이오)' 와 '바이오텍터S1 (CJ 제일제당)' 가 사료첨가제로 등록되어있으며, 병원성 세균 제어하기 위한 다양한 파지 연구가 진행되고 있다. 축산업뿐만 아니라 농업분야에서도 파지를 이용한 치료제 개발이 진행중에 있으며, 식물세균병 중 Xanthomonas와 Pseudomonas의 특이 파지 연구 및 수산용 항생제 대체제로 파지의 연구 등이 진행되고 있으며, 실용화 예정에 있다.

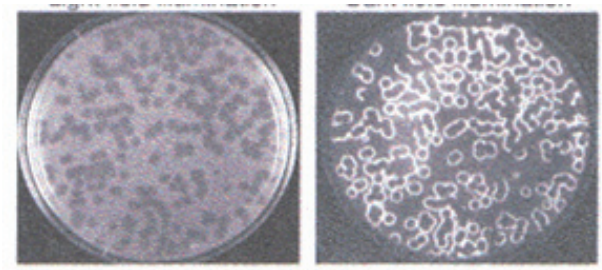
그림 6. 리스테리아 억제 박테리오파지 스프레이 ListShield

파지 효소

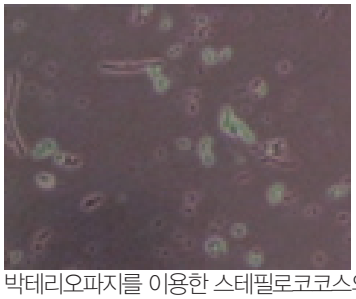
최근 박테리오파지 자체를 치료제로 쓰는 기존 방식에서 탈피해 박테리오파지로부터 세균의 세포벽을 용해시키는 효소를 이용해 항생제를 대체하는 연구가 세계적으로 진행되고 있다. 리신(lysin)은 박테리오파지가 분비하는 대표적 항균 물질로, 독자적인 기능과 분자구조를 가지고 있다. 리신은 두가지 도메인을 가진 단백효소로 활성 도메인(EAD)이 촉매작용을하고, 세포벽 결합 도메인 (CBD)이 세균의 높은 친화력과 특이성을 나타내어 특이 세균의 세포벽 용해 등 살균 작용을 한다. 연구 결과, 리신은 단독으로도 박테리아를 수분내 용해 가능하며, 바이오필름 등의 용해능도 확인되어 병원성 세균을 억제하는 항생제 대체제로 높은 잠재력을 가지고 있다. 특히 리신의 경우, 구조나 생물학 정보 분석을 바탕으로 실험을 통해 파지의 숙주 범위를 넓히고, 용균력을 향상하는 등 조절이 가능하여 최근 항생제 대체 물질로 높은 관심을 받고 있다.

진단용으로 파지의 연구

세계 과학자들은 최근 치료 및 세균 억제뿐 아니라 특정 세균의 진단을 위하여 박테리오파지를 이용하는 연구를 진행하고 있다. 특정 색깔이나 형광유전자를 박테리오파지에 삽입하여 검색하고자 하는 특정 세균이 있을 경우, 파지가 증식하여 발색 및 발광하게 된다. 예를 들어 탄저균인 Bacillus anthracis가 환경에 유출되면 오염지역 및 오염원을 우선 확인해서 제거하고, 추후 오염 지역에서 탄저균이 제거된 것을 확인하여야 한다. 이를 위해서는 오염원을 기준으로 6 Km2 범위에서 1,000,000 샘플을 시험하여 탄저균 음성임을 확인하여야 하는데, 이때 형광물질(luxA and luxB)이 삽입된 리포터 파지를 이용한다면, 수시간 후 발광측정기로 탄저균의 확인이 가능하게 된다 (그림 7). 이런 리포터파지의 개발은 유해균인 대장균, 살모넬라, 슈도모나스 등을 검출하기위하여 진행되고 있으며, 특별한 장비없이 수시간내에 세균 검출을 용이하게 할 것으로 생각된다.



박테리오파지를 이용한 탄저균 특이 발광반응
(좌:육안확인, 우:UV확인)



박테리오파지를 이용한 스테필로코코스의 특이적인 발색 현상
(현미경 X100)

그림 7. 리포터파지를 이용한 병원성 세균의 확인
그림출처 : 20th Evergreen International phage meeting

파지를 이용한 생명공학 연구

마리안 터너는 지난 2011년 독일에서 발생한 대장균 O104:H4 가 인체에 치명적인 시가독소 유전자를 갖게 된 원인이 박테리오파지에 의한 시가독소의 전파 때문이라고 네이쳐지에 발표하였다. 이런 유전자 전달이 가능한 특성이 있는 특정 박테리오파지는 병원성 유전자 및 항생제 내성 유전자 전달, 기존 세균의 유전자에 무작위로 삽입되어 세균의 유전자 변이 등이 가능하게 한다. 또한 람다파지 등 특이 박테리오파지는 유전체 도서관 형성이 가능하여 오래전부터 분자생물학 실험에서 유전자 벡터로서 사용되어왔다.

최근에는 T4 파지처럼 모든 유전자가 규명되어 안전성이 확보되었다고 여겨지는 파지의 미부섬유 유전자를 변형하여 파지의 숙주 범위를 넓히는 등 다양한 생명공학 연구가 진행되고 있다.

결 론

최근 유럽에 유행하였던 장출혈성 대장균 O104:H4에 독성을 전달한 것이 박테리오파지라면, O104:H4의 치료 또한 박테리오파지로 가능하다는 것이 많은 연구결과를 통해 발표되었다. 몇몇 연구자들은 박테리오파지는 진화를 인위적으로 통제할 수 없고, 자칫 인체에 심각한 위해를 끼치는 돌연변이의 출현 가능성을 배제하기 어렵다고 한다. 제약사 및 연구기관에서 박테리오파지의 효용성에 주목하면서도 연구개발 및 사용에 적극이지 않았던 것도 이 같은 우려에 기인한다. 그러나 박테리오파지 옹호론자들은 박테리오파지는 평범한 물 한 방울에 수만 마리가 들어 있고 인체 내에도 수십억 마리가 살고 있을 만큼 흔하지만 돌연변이를 일으킨 파지는 극히 드물며, 파지의 사용 역사가 길고 이미 상용화되고 있으나 박테리오파지에 의한 부작용은 보고된 적이 없다고 한다.

아직까지 박테리오파지에 대한 연구는 진행 중이며, 그 효용성 및 부작용은 앞으로 많은 연구와 적용 등을 통해 밝혀질 것이다. 또한 박테리오파지를 이용한 항생제 대체 연구뿐만 아니라 박테리오파지 효소를 이용한 항생제 대체, 특이 세균의 반응 및 용균 작용 이용한 진단법 개발, 생명공학을 이용한 박테리오파지 개발이 수행된다면 박테리오파지의 적용범위는 무궁무진할 것으로 생각된다.