

## Repeat Sequence Protein Polymer (RSP) 기술의 활용

재조합 단백질 발현 기술은 치료 및 진단을 목적으로 한 의약품과 산업용 효소의 대량생산 및 특성 개량에 유용한 단백질이나 펩타이드 유전자를 미생물 또는 동물세포 등 생물체에서 유전공학적 기법을 사용하여 대량 발현시킴으로써 이들 고부가가치 생리활성물질들을 저렴한 비용으로 대량 생산할 수 있는 핵심 기반기술이다. 최근 전 세계적으로 급성장하고 있는 생물학약품의 대부분은 의약품 재조합 단백질이 차지하고 있으며 조혈촉진인자인 erythropoietin(EPO), 인터페론, 인슐린 등이 대표적인 제품들이다. 이러한 재조합 단백질의 활용이 최근 의약품뿐만 아니라 생체재료 및 나노바이오소재 분야에서도 연구가 활발히 진행되고 있다.

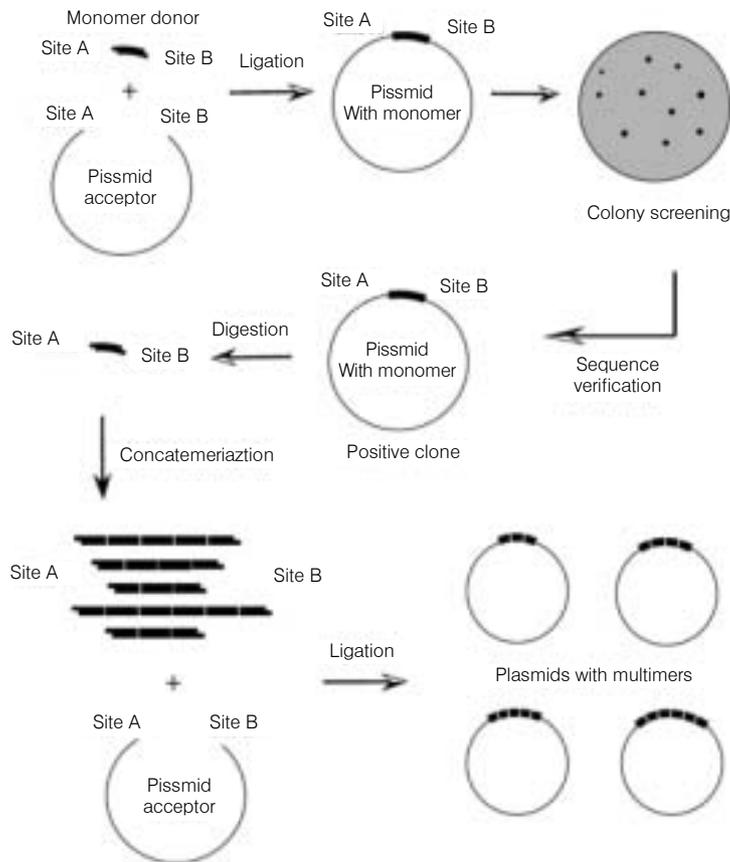


그림 1. RSPP 기술에 의한 단일 모노머를 가지는 블록 공중합체 단백질의 설계(Biomacromolecules, 2006).

펩타이드 구조와 같은 특정한 모노머 라이브러리를 이용하여 bottom-up 설계를 통해 자신이 원하는 배열과 특성을 가지는 기능성 protein-based biopolymer(PBB)의 개발은 많은 재료과학자들이 염원해 왔다. 약 20여년전부터 PBB의 설계 및 합성을 위해 분자생물학 및 단백질공학 기술이 강력한 수단으로 등장하게 되었고(그림 1), 그 당시 Alabama 대학의 Urry교수 연구팀은 천연고분자인 엘라스틴의 아미노산 반복 배열인 val-pro-gly-val-pro(VPGVP)를 배수 병렬한 VPGVP G-(VPGVG)<sub>19</sub>-VPGVP를 클로닝하여 대장균에서 발현하여 정제에 성공하였다. 천연고분자의 구조적인 성질을 나타내는 대부분의 섬유상 단백질은 생체내 혹은 자연에서 기계적 또는 형태적인 기능면에서 단백질 내의 아미노산 서열에 있어서 반복적인 배열을 취하고 있다. 이러한 반복적인 일차구조는 셀프어셈블리에 의해 상대적으로 균일한 이차구조를 가지게 되어 섬유상 구조를 가지는 재료의 형성을 위해 매우 필요한 부분이다. 이러한 구조단백질의 반복 배열을 이용한 repeat sequence protein polymer(RSP) 합성 기술은 기능성 PBB의 설계를 위한 중요한 개념을 제공하고 있고, 이러한 생체 내 구조단백질과 그 반복 배열을 가지는 대표적인 예는 다음과 같이 엘라스틴(GVGVP, VPGG, APGVGV), 실크 피브로인(GAGAGS), 족사(GPGGG), 편모상 실크(GPGGx), 거미 실크(GPGQQ, GPGGY, GYGPGS), 콜라겐(GAPGAPGSQGAPGLQ,

GAPGTPGPQGLPGSP), 그리고 케라틴(AKLKLAELAKLELA)을 들 수가 있다. 최근에는 이러한 구조단백질의 배열 내에 특정한 기능을 가지는 펩타이드 배열을 삽입하는 방법은 유전공학적 수법으로 간단하게 수행이 가능하며, 기능적으로 다양한 RSPP의 개발에 관한 많은 연구가 보고되고 있다. Tufts대학의 Kaplan교수 연구팀은 황금원형거미(학명 : *Nephilaclavipes*)의 거미줄을 구성하는 단백질과 플랭크톤의 일종인 구조류가 우리와 같은 성분인 실리카를 만드는 데 도움을 주는 단백질을 융합하여 새로운 기능을 가지는 RSPP를 합성하여 나노 복합체로 활용하는 시도를 하였다(그림 2, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2006). 이러한 신규 단백질은 거미줄의 실크단백질 단독으로는 결코 원하는 경도를 가질 수 없기 때문에, 실리카를 실크에 결합시키는 방법이다. 두 개의 서로 다른 기능을 가지는 펩타이드를 암호하는 유전자를 재조합 한 후 발현된 융합단백질을 필름과 섬유 속에 밀도 높은 실리카 코팅을 만들어 낼 수 있다. 이러한 기술은 고관절 대체를 위한 의료용 나노 소재 및 친환경 소재의 개발을 가능하게 한다. Maryland 대학의 Ghandehari 교수 연구팀은 실크의 반복 배열(GAGAGS), 엘라스틴 반복 배열(GVGVP)의 조성을 변화시켜 다양한 silk-elastin-like protein(SELP)를 개발하여 sol-to-gel 전이를 확인하였다. 특히 엘라스틴의 반복 배열중의 하나의 valine(V)을 전체 모노머당 한 개 꼴로 lysine(K)으로 치환한 SELP47K(그림 3)의 경우, plasmid DNA나 아테노바이럴 파티클이 이 SELP47K으로 형성된 하이드로젤로부터 약 1개월간 방출됨을 확인하였다. 나아가 Denisco사의 Kumar 박사 연구팀은 SELP47K에 항균성을 가지는 펩타이드, 셀룰로오스 결합 펩타이드, 자외선 보호 펩타이드를 부가한 새로운 생물학적 활성을 가지는 기능성 블록 공중합체 단백질 RSPP를 개발하였다(*Biomacromolecules*, 2006). 이러한 융합단백질은 homoblock RSPP나 천연고분자에서 볼 수 없는 실크의 내구성과 엘라스틴의 탄성을 가지는 동시에 새로운 생물학적 기능을 가지고 있어 생체방어, 섬유사업, 화장품 및 의약품 사업에서도 응용이 가능하다.

RSPP 블록 공중합체는 고전적인 고분자 화학에 의해 합성된 고분자에 비해 분자 크기의 제어가 가능하며, 균일한 분자량을 가지는 공중합체를 얻을 수 있으며, 모노머의 조성의 조절이 가능하며, bottom-up 방식으로 원하는 화학적, 생물학적, 기계적인 특성을 가지는 고분자의 합성이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 앞에서 언급한 이외에도, 이러한 RSPP는 sol-to-gel 전이가 가능하며, 약물방출시스템과 조직공학용 스키포드로서 지금까지 많은 연구 대상이 되어 왔고, 앞으로 이를 응용한 다양한 고분자 재료 및 친환경 산업에 이르기까지 그 영역을 확대할 수 있을 것으로 기대된다.

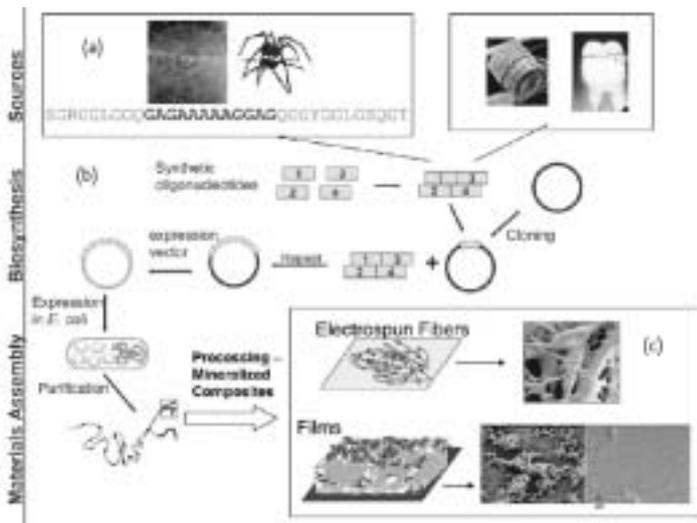


그림 2. RPSS 기술을 이용한 거미줄 단백질과 실리카 결합 단백질의 융합 단백질의 합성 및 그를 이용한 나노구조체에의 활용(*Materialstoday*, 2006).

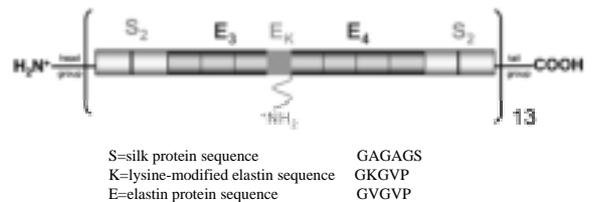


그림 3. Silk-elastin-like protein polymer(SELP47K) (*Biomacromolecules*, 2006).

<한국과학기술연구원 바이오소재연구센터 김상현, e-mail: skimbrc@kist.re.kr>