

“DOFLA, 바이오마커 구조·특징 불명확한 대상도 적용 가능

선택성이 정의되지 않은 후보 물질들을 사전 지식 없이 특정 세포 혹은 목표물질에 반응”

글_ 장영태 박사(싱가포르대학교 화학과 교수), 강남영 박사, 김범수 박사

들어가는 말

수술을 하지 않고도 생체의 내부를 들여다 볼 수 있는 바이오 이미징 기술은 현대 의학의 최첨단 분야라고 할 수 있다. 다양한 물질과 구조가 얹혀있는 생체 환경에서 특정 목표 분자 혹은 목표 세포만을 선택적으로 판별해 내는 것이 바이오 이미징의 핵심 기술이다. 생체 속에 투입되었을 때, 목표물에 도달하여 목표물의 존재 여부를 보고할 수 있는 정탐물질을 프로브(Probe, 탐침)라고 부른다. 따라서, 이미징 프로브란 1) 목표물에 선택적으로 결합하고, 2) 이미징 형태로의 관찰에 용이한 성질을 지니고 있어야 한다.

이미징 프로브를 개발하기 위한 일반적인 방법은 바이오마커 (biomarker)라고 불리는 목표분자를 먼저 설정하고, 이에 선택적으로 결합하는 프로브를 분자 수준에서 설계하거나 스크린 방법으로 찾아 내는 것이다. 예를 들면 알츠하이머 병을 진단하는 대표적인 바이오마커는 Aβ 플라크이고, Her2는 유방암의 잘 알려진 바이오마커이다. 바이오마커는 병의 진단에 결정적인 역할을 할 수 있어야 하기에, 좋은 바이오마커를 찾는 것은 진단, 예후, 때로는 치료 자체에도 대단히 중요하다. 바이오마커를 찾는다는 바이오인포메틱스나 유전체학, 단백질체학 등이 주로 사용되는데, 좋은 바이오마커를 찾는 것도 어렵고 중요한 일이나, 이에 선택적으로 결합하는 프로브를 찾는 것 역시 이에 못지 않게 중요하고도 어려운 작업이다.

프로브를 분자 설계로 개발하려면 X-ray 결정 구조나 NMR 데이터를 통해 바이오마커의 구조가 명확히 규명되어 있어야 하고, 컴퓨터를 이용한 시뮬레이션이 주로 사용된다. 스크린으로 찾는 경우, 전통적으로 가장 잘 알려진 방법은 생체의 면역 시스템을 이용하여 바이오마커에 선택적으로 결합하는 항체를 쓰는 것이다. 그러나 항체는 분자량 150,000에 이를 정도로 크기에, 살아있는 세포막을 투과하기 어려운 면이 있다. DNA나 RNA와 같은 유전물질도 분자 진화 기법을 통해 선택적인 프로브로 개발될 수 있는데, 이런 분자를 aptamer라고 부른다. aptamer는 항체와 비견될 정도로 우수한 결합력을 가진 프로브로 개발될 수 있기는 하나, 역시 고분자이고 분자내에 포함된 다수의 인산기로 인한 강한 음전하 때문에, 역시 세포 내로의 투과에 어려움이 따른다. 분자량 500 미만의 저분자 구조인 약물 분자들은 우수한 생체 흡수성으로 좋은 대체물이 될 수 있기는 하나, 프로브로 사용되기 위해서는 형광이나 방사선 동위원소를 도입하는 변형이 추가적인 작업으로 요구된다. 특히, 형광 분자가 도입되는 경우에는 형광 분자 자체의 분자량 때문에 전체 분자량이 1,000에 육박하여 이



미 약물 유사형의 저분자로서의 장점을 잃게 되어, 생체 흡수성이 저하되는 문제점이 일반적으로 발생한다. 한편, 알려진 바이오마커가 전혀 없는 경우에는 프로브를 개발할 수 있는 이론적 기반 혹은 가설이 존재하지 않음으로서, 프로브 개발의 방향 설정 자체가 불가능하다는 문제가 있다.

다양성을 기반으로 한 이미징 프로브 개발 전략

이미징 프로브를 개발하기 위한 새로운 방법으로는 분자의 다양성을 이용한 라이브러리 접근법이다. 다양한 형광 분자를 라이브러리 형태로 합성하여 도구 상자로 활용하고, 바이오마커를 대상으로 스크린함으로써 새로운 프로브 후보 물질을 찾아내는 기법이다. 이 방법은 마치 항원이 몸 속에 침입했을 때, 생체가 내재된 항체 라이브러리를 이용한 스크린을 통해 최종 선택적인 항체를 만들어내는 것에 비유할 수 있다. 형광 물질은 선택적인 빛을 흡수하여 특정 파장의 빛을 방출하는 성질을 가져 이미징 프로브로 사용되기 적합한 성질을 지니고 있다. 또한, 방출되는 빛을 관찰 할 때 흡수되는 빛의 간섭을 최소화 할 수 있어 높은 감도로 목적하는 물질의 구분이 명확한 장점이 있다.

본 연구실에서는 다양한 분자 구조를 가진 형광 분자를 라이브러리 형태로 합성하여 조건에 구애받지 않는 스크린을 통해 새로운 프로브를 개발하는 접근법을 개발하였다. 이 방법은 DOFLA (Diversity-Oriented Fluorescence Library Assay)라고 불리며, 400nm에서 850nm에 이르는 가시광선 전역과 근적외선 영역까지 망라하는 10,000개 이상의 합성 형광 분자를 기반으로 개발되었다. DOFLA는 선택성이 정의되지 않은 후보 물질들을 사전 지식 없이 특정 세포 혹은 목표물질에 반응시키는 방법이기 때문에 바이오마커의 구조와 특징이 명확히 밝혀져 있지 않는 대상에 대해서도 적용이 가능한 장점을 지니고 있다. 또한, 후보 이미징 프로브들은 저분자 화합물 자체적인 반응성을 이용하기 때문에 기존에 사용되고 있는 항체 혹은 핵산 중합체에 화학적 결합이 된 형광물질에 비해 세포 투과력이 높고 재현성이 뛰어나며 대량 생산에 용이한 장점도 지니고 있다. (그림 1)

■ 그림 1. 전통적인 프로브 개발법과 DOFLA의 비교



충분한 다양성을 확보하기 위해서는 우선 다양한 핵심구조가 포함되어야 하고 가능한 모든 형광 색깔을 가진다면 이상적이다. 따라서 많은 수의 저분자 물질을 합성하기 위해 정제가 용이한 고체상 화학합성 기법이 선호되었다. 고체상 화학합성 기법은 원래 신약을 개발하기 위한 도구로 유용하게 사용되어 왔는데, 다양성 기반 이미징 프로브 접근법에서는 두 가지 방향으로 응용되어 사용되고 있다. 첫째는 기존의 알려진 구조를 확장하여 다양한 유도체를 만드는 접근법이다. 이 경우 물성과 화학적 성질에 대한 정보를 어느 정도 확보하고 있는 상태이기 때문에 상대적으로 유용한 방

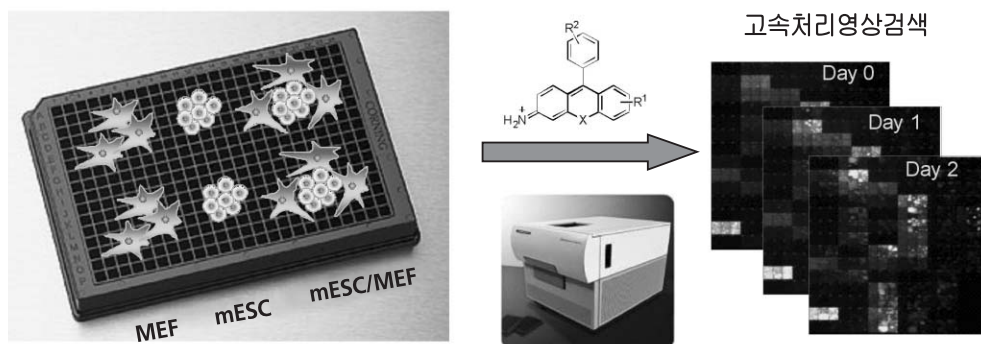
법이라 하겠다. 둘째는 난이도가 높은 접근법으로, 여러 종류의 화합물을 동시에 처리하여 바이오 마커의 구조에 따라 자동적으로 적절한 구조의 프로브가 합성되도록 하는 기법이다. 물론 기술적인 어려움이 많겠으나, 성공적으로 진행할 수만 있다면 다양성 확보의 측면에서는 이상적인 접근법이라 하겠다.

DOFLA를 이용한 새로운 프로브의 개발

바이오마커가 알려져 있는 경우에는 고속처리검색 (High Throughput Screening: HTS)을 통해 DOFLA를 적용할 수 있다. 이 방법으로 DNA, RNA, G-quadruplex와 같은 핵산 물질, albumin, immunoglobulin, 아밀로이드와 같은 단백질, 헤파린이나 콘드로이틴 같은 탄수화물 고분자, GTP, glutathione, 과당이나 포도당, 히스타민, 도파민, 카페인, 마약을 검출하는 프로브들이 성공적으로 개발되었다. 개별 바이오마커가 알려져 있지 않은 경우에는 단일 프로브가 아니라, 다수의 프로브를 어레이(array)로 적용하여 패턴 분석을 하면, 마시는 물조차도 출처를 밝혀낼 수 있을 만큼의 감도와 선택성을 보일 수 있었다.

DOFLA의 잠재력은 바이오마커가 전혀 알려져 있지 않은 생체 시스템이나 세포에서 더욱 진가가 발휘될 수 있다. 예를 들어 사람의 몸 속에 존재하는 수백개의 세포 중 한 가지 세포만을 선택적으로 염색하는 프로브를 개발하고 할 때, 좋은 바이오마커가 알려져 있지 않다면 기존의 가설 의존 방법으로는 접근하기가 사실상 불가능하다. 이런 상황에서 DOFLA는 효율적인 세포 선택적 프로브를 발견하는 현재까지 알려진 가장 좋은 방법이다. 수천 개의 합성물을 목표세포와 대조군과 비교 및 스크린하여 한가지 세포에만 선택적인 프로브를 찾아낸다. (그림 2)

■ 그림 2. 세포를 이용한 고속처리영상검색법



이러한 다양성기반 세포 스크린 방법은 기존의 방법에 비해 다음과 같은 뛰어난 장점이 있다.

- 목표세포에 대한 분자 정보가 없는 경우에도 스크리닝이나 선택적 프로브를 개발할 수 있다.
- 생체시스템에서 직접적으로 프로브를 개발하므로 시험관이나 시뮬레이션 결과를 생체 시스템에 다시 접목시킬 필요가 없다.
- 실험군과 대조군의 세포 사이에는 아주 다양한 요소(factor)들이 있기 때문에, 세포기반 스크리닝은 많은 목표에 대해서 저분자들을 동시에 테스트 할 수 있다. 수천개의 가능한 바이오마커 후보에 대한 수천개의 염색 스크리닝은 수백만 개의 조합 테스트를 할 수 있으므로, 전통적인 방법에 비해 선택적 프

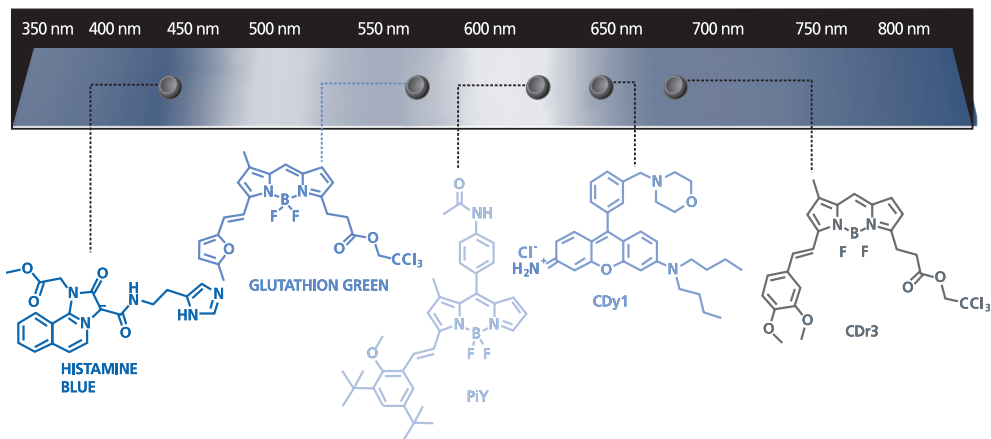
로브를 개발할 수 있는 기회가 더 많다.

- 일단 선택적 프로브를 발견하면, 목표 단백질을 확인함으로써 새로운 바이오마커를 개발할 수 있다.

이러한 새로운 접근법을 실제적인 플랫폼으로 적용하기 위해서는 몇 가지의 전제조건이 필요하다. 우선, 높은 순도의 형광 라이브러리 구축과 생물학적 적용 타당성을 가지고 있어야 한다. DOFL에 포함된 형광분자들은 benzimidazolium, dapoxyl, rosamine, styryl, BODIPY를 포함한 크기가 작고 (분자량 500 이하), 세포막을 쉽게 투과하고 생물학적 흡수율이 좋은 약물성을 가지게 설계되었다.

DOFLA를 이용하여 지금까지 다수의 세포 선택적 프로브들이 개발되었다. 예로 CDy1은 인간 배아줄기세포와 유도만능줄기세포에 특이적으로 결합하고, 기존의 Oct4-GFP 형광단백질에 비해 시기적으로 빠른 염색 양상을 보임으로써, 유도만능줄기세포 (induced pluripotent stem cell: iPSC)를 유발할 수 있는 실험 검색 시 보다 효율적으로 이용될 수 있는 장점을 가지고 있다. 또한, 해당 이미징 프로브는 형광 단백질을 발현하는 형질전환 동물모델을 이용해야 하는 기존의 한계에서 벗어나, 일반 동물 및 나아가 인간에게까지 적용될 수 있는 이미징 프로브의 사용 가능성을 제시하고 있다. CDr3는 신경줄기세포를, PiY는 췌장의 베타세포를 선택적으로 염색함으로써, 살아있는 상태의 줄기세포 및 췌장섬세포의 분리에 응용될 수 있음이 시연되었다 (그림3). DOFLA는 배양할 수 있는 거의 모든 세포에 적용이 가능하며, 현재 각종 면역세포, 신경, 대식세포, 그리고 암줄기세포의 이미징 및 분리에 적용되고 있다.

■ 그림 3. DOFLA를 이용해서 개발된 대표적인 바이오이미징 프로브들



싱가폴 바이오이미징 연구 현황

바이오 이미징 분야의 기술 개척을 위해서는 새로운 이미징 프로브를 개발하는 분자화학적 기술과 이를 생물에 적용할 수 있게끔 하는 바이오 기술의 융합이 필수적으로 요구되기 때문에 다양한 분야들 간의 협력연구가 무엇보다 중요하다. 싱가포르의 과학기술부처인 A*STAR는 바이오이미징 산업에 선도적인 기술개발을 위해 SBIC (Singapore Bioimaging Consortium)을 조직하여 주요 연구기관 중의 하나로 지정, 지속적인 지원을 하고 있다.

SBIC는 싱가포르 의생명과학연구 클러스터인 바이오폴리스 내에 입주되어 있으며 (그림 4), 싱가포르 내외 연구단체에 바이오 이미징 연구기반을 제공하고 있다. 구체적으로는 싱가포르 국립대, Siemens사와 함께 2007년 NUS-A*STAR Clinical Imaging Research Centre (CIRC)라는 협력 연구단체를 조직하여 싱가포르 내 생명과학 연구자들에게 최신 이미징 기기들의 이용과 관련 기초 지식을 지속적으로 지원하고 있다. 2011년에는 대형동물 이미징에 특화된 Maccine사와 제휴하여 'Translational Imaging Industrial Laboratory' 라는 연구 협력체를 설립하였고, 세계적 제약기업들에게 신약의 개발에 필요한 전임상 이미징 및 향후 임상에 적용하기 위한 이미징 방법을 제공하기 위해 노력 중이다. 이에 더해, Nikon사와 협력하여 최신 광학 현미경 이미징을 제공하는 SBIC-NIC (Nikon Imaging Centre)를 SBIC와 동일 건물 내에 두어 최신의 테크닉을 교육받을 수 있고 적용할 수 있는 환경을 제공하고 있다.

■ 그림 4. 바이오폴리스 전경



소개

강남영 (이학박사) - 2007년 동아대학교 이영춘 교수 지도하에 세포분자생물학 전공으로 이학박사 학위를 받았다. 2008년 싱가포르 국립대학교 화학과 장영태 교수님 연구실에서 박사후 연구원으로 재직하였고, 2010년 싱가포르의 과학기술부 차인 A*STAR 소속의 SBIC로 옮겨 줄기세포를 비롯한 당뇨병 관련한 체장 형광 브로브를 개발하였으며, 현재 이를 바탕으로 동물 모델 프로브 개발 연구중이다.

김범수(이학박사) - 2009년에 아주대 조은혜 교수 지도 하에 신경과학전공으로 이학박사 학위를 받았다. 분자생물학 및 신경교세포에 대한 연구를 주로 수행하였고, 2013년에 싱가포르 국립대 화학과의 장영태 교수 연구실에 합류하여 박사후 과정으로 신경줄기세포에 대한 새로운 형광프로브 개발 연구를 수행 중이다.

SBIC에서 중점적으로 연구되는 분야는 1) 본 연구실이 주도하는 저분자 이미징 프로브의 개발 2) SERS 등 새로운 광학적 방법을 이용한 질환 이미징 3) 향상된 MRI를 이용한 질환 이미징 4) MRS를 이용한 대사체 이미징 6) NanoSPECT와 microPET 이미징을 위한 새로운 방법 개발을 들 수 있다. 주된 질환 모델로는 비만, 당뇨 및 뇌 질환을 다루고 있으며 이에 대한 기초생물학적 연구와 더불어 진단에 이용될 수 있는 방법 등의 개발을 목표로 연구에 매진하고 있다.

싱가포르의 의생명과학 분야는 국가경제 4대 중심축 중 하나로 2003년에 지정된 후 괄목할 만한 성과를 보이고 있으며, 현재 관련 사업의 규모가 2012년 294억 달러, 부가가치는 153억 달러에 이르는 고부가가치 산업으로 자리잡은 상태이다. 그 중에서도 바이오 이미징 사업은 의생명과학 분야의 지속적인 성장을 위해 반드시 필요한 연구분야로 본 연구실이 속한 SBIC의 미래가 기대되는 부분이다. □

KHIDI SNS기자단 모집



한국보건산업진흥원에서는 보건산업에 대한 국민의 이해도를 높이고, 대국민 소통 활성화를 위해 SNS기자단을 모집합니다.

접수 기간 **공고일 ~ 2014. 3. 25(화)**

활동 기간 **2014. 4월 ~ 12월말(9개월)**

선정 대상자는 홈페이지 공지 및 개별통보

| 대상 및 지원자격 |

- 파워 블로거이며 페이스북, 트위터에 능숙한 대학(원)생
- 웹툰, 동영상, UCC 등 영상물 제작이 가능한 사람
- 보건산업, 신문방송학 관련전공 대학생 우대

| 활동내용 |

- 기획기사 작성 및 글 등록 : 월 1회 이상
 - 진흥원 주요행사, 사업을 취재하고 기획기사를 작성
 - 진흥원 홈페이지, 블로그 및 기자 개인 SNS에 등록 및 전파
- 콘텐츠 제작 : 월 1회 이상
 - 진흥원과 관련된 주제로 제작
 - 콘텐츠 종류 : 동영상, 웹툰, 플래시 애니메이션, UCC 등
- 정보 등록 및 전파 : 월 20회 이상
 - 진흥원 홈페이지 공지사항 등 게시물을 기자가 운영 중인 블로그와 페이스북, 트위터에 등록 및 내용 전파
- 월 정기모임

| 모집인원 및 전형방법 |

- 인원 : 00명 • 전형방법 : 서류전형

| 혜택 및 특전 |

- 진흥원과 관련된 다양한 행사 참여 기회 제공
- 월 활동비 및 여비 지급
- 우수기자 선정하여 상품권 지급

| 지원 및 제출방법 |

- www.khidi.or.kr 로 접속
- 공지사항에서 [KHIDI SNS 기자단 모집] 공고문에서 첨부된 지원서 파일 다운
- 지원서 작성 및 기사 작성
- 지원서 및 기사 파일을 이메일로 송부
(이메일로만 접수) E-mail : ky3128@khidi.or.kr

