

★ 9월 9일(금) 조간부터 보도하여 주시기 바랍니다.

보도자료 2011. 9. 8(목)	 <p>함께하는 공정사회 더 큰 희망 대한민국</p> <p>교육과학기술부 Ministry of Education, Science and Technology</p> <p> 한국연구재단 National Research Foundation of Korea</p>
	<p>교육과학기술부 홍보담당관실 ☎ 02-2100-6580 한국연구재단 정책홍보팀 ☎ 042-869-6116</p>

<자료문의> ☎ 02-2100-6829, 교과부 기초연구지원과장 염기수, 사무관 지운하
☎ 054-279-2280, 포스텍 화학공학과 차형준 교수

다양한 표면에 항체를 효율적으로 고정시킬 수 있는 링커 개발

- 'Advanced Functional Materials' 발표, "홍합접착단백질의 접착력과 항체결합단백질의 항체결합력 융합" -

□ 홍합접착단백질의 뛰어난 접착력과 항체결합단백질*의 항체결합력을 융합하여 항체를 항원이 존재하는 다양한 표면에 정확히 효율적으로 고정시킬 수 있는 '고기능성 항체 고정화용 링커(BC-MAP)'가 국내 연구진에 의해 개발되었다.

* 항체결합단백질 : 항체의 변형 없이 항체의 Fc 부분(항체 Y의 끝 부분)과 높은 친화력으로 결합하는 특징이 있고, 프로틴 A, 프로틴 G, 프로틴 L 등 3가지가 밝혀져 있음.

○ 포스텍 차형준 교수가 주도한 이번 연구는 교육과학기술부(장관 이주호)와 한국연구재단(이사장 오세정)이 추진하는 중견연구자지원 사업(도약연구)의 지원을 받아 수행되었고, 연구 결과는 신소재 분야의 권위 있는 학술지인 'Advanced Functional Materials' 온라인 속보(8월 31일)에 게재되었다. 또한 논문의 독창성 등을 인정받아 학술지 표지논문으로도 발표될 예정이다.

(논문명 : A mussel adhesive protein fused with the BC domain of protein A is a functional linker material that efficiently immobilizes antibodies onto diverse surfaces)

- 차형준 교수 연구팀은 홍합에서 분비되는 접착단백질이 다양한 표면에 손쉽게 부착될 수 있다는 점과 항체결합단백질이 항체의 Fc 부분과 잘 결합한다는 점에 착안하여, 항체를 전(前)처리 과정 없이 다양한 표면에 항원이 존재하는 표면에 정확히 효율적으로 고정시킬 수 있는 ‘차세대 고기능성 항체 고정화용 링커’를 개발하였다.
- 면역센서에서 항체를 항원이 존재하는 고체기질 표면에 효율적으로 고정화하는 것은 매우 중요하다.
 - 지금까지 항체를 표면에 고정하기 위해 많은 방법들이 개발되었다. 초기에는 항체의 물리적 흡착과 화학적 변형을 통해서 직접적으로 표면에 고정하였으나, 이 방법은 항체의 무작위적인 결합 또는 항체 활성(항원과 결합할 수 있는 능력)의 감소와 같은 단점들이 나타났다. 이러한 문제점들을 보완하기 위해서 항체와 결합할 수 있는 단백질들을 링커로 사용하는 방법들이 고안되었지만, 이 단백질들을 표면에 효율적으로 고정하는 것이 또 다른 문제였다. 화학적인 방법으로 항체결합단백질 표면과 결합할 수 있는 방법도 개발되었으나, 항체의 Fc부분에 결합할 수 있는 능력을 감소시킨다는 문제점이 발생하였다.
 - 최근에는 기존 항체 고정화 방법들의 단점과 문제점들을 해결하기 위해 항체결합단백질에 유전공학적인 방법들을 도입하고 있다. 그러나 이 방법은 항체결합단백질의 활성을 감소시키지 않고 항체를 효율적으로 고정할 수 있는 장점이 있지만, 오직 특정 표면에만 항체를 고정시킬 수 있는 한계가 있었다.
 - 차 교수팀은 홍합접착단백질을 항체결합단백질을 구성하는 도메인들에 결합하는 유전자설계를 통해 항체를 효율적으로 다양한 표면에 고정하는 신개념 항체 표면 고정화용 링커 개발에 성공하였다.

□ 차형준 교수팀이 개발한 기능성 항체 고정화용 링커는 항체결합 단백질로만 이루어진 기존의 항체 고정화용 링커보다 항체 고정화율이 6~10배 이상 높은 것으로 나타났다.

- 차 교수팀은 홍합접착단백질(MAP)을 항체결합단백질의 구성 도메인들 중 B와 C의 두 도메인에 도입하여 전처리 과정 없이 다양한 표면에 항체를 효율적으로 고정할 수 있는 융합단백질 기반 항체 고정화용 링커(BC-MAP)를 만들었다.
- 이 항체 고정화용 링커는 홍합접착단백질의 접착력에 기반을 두어 특정 표면을 만들기 위한 전처리 과정 없이 다양한 표면(유리, 플라스틱, 금속)에 효율적으로 코팅되고 항체결합단백질의 능력에 의해 항체를 항원이 존재하는 표면에 딱 맞게 고정할 수 있다는 사실을 확인하였다.

□ 또한 연구팀은 개발된 기능성 항체 고정화용 링커를 이용해 제작한 면역센서에서 항체와 항원 간의 상호작용과 특이성을 확인함으로써 이 항체 고정화용 링커를 이용해 다양한 표면을 기반으로 한 면역센서 개발의 가능성을 확인하였다.

- 연구팀은 항체 고정화용 링커를 이용해 제작한 유리 슬라이드 기반의 면역센서를 통해 항체와 항원 간의 상호작용과 정량적인 분석이 가능하다는 것을 확인하였다.
- 또한 제작된 면역센서가 교차 반응 없이 상응하는 항원과 결합된다는 것도 확인함으로써 기능성 항체 고정화용 링커를 이용해 제작한 면역센서는 특이성을 가질 수 있다는 점을 확인하였다.

- 차형준 교수는 “이번 연구는 홍합접착단백질과 항체결합단백질의 결합을 통해 다양한 표면에서 항체를 효율적으로 고정할 수 있는 신개념의 항체 고정화용 링커를 개발한 원천소재기반 연구로, 임상 분야, 환경, 식품, 국방 분야 등 다방면에서 사용될 면역센서 개발에 적극 활용될 수 있을 것으로 기대한다”라고 연구의의를 밝혔다.

붙임 1. 용어설명

2. 사진설명

문의처 : 포스텍 화학공학과 차형준 교수 (054-279-2280)

교육과학기술부 기초연구지원과 지운하 사무관 (02-2100-6829)

한국연구재단 전략홍보실 정책홍보팀 조은혜 선임연구원 (042-869-6116)

용 어 설 명

1. 홍합접착단백질 (mussel adhesive protein)

- 해양생명체인 홍합은 접착단백질을 생산, 분비함으로써 홍합 자신을 바다 속의 바위와 같은 젖은 고체표면에 단단히 부착할 수 있도록 하여 강한 파도의 충격이나 바다 속의 부력 효과에도 저항할 수 있다. 접착을 위해 홍합에서 만들어져 분비되는 홍합접착단백질은 종류와 성질을 구분하기 위하여 foot protein의 약자인 fp라는 단어를 사용하여 분류한다. 이는 홍합접착단백질이 홍합의 발에서만 분비되기 때문에 붙여진 이름이다. 현재까지 발견된 홍합접착단백질은 총 6가지로, 각각의 홍합접착단백질은 fp-1에서 fp-6까지 이름을 붙였다. 이 중 특히 fp-1, fp-3, fp-5 단백질이 접착 및 코팅에 직접 관여할 것으로 여겨지고 있다. fp-1은 홍합접착단백질 type-1으로서, 가장 먼저 발견되어 가장 많은 연구가 이루어져 온 접착단백질이다. fp-3과 fp-5는 홍합이 바다 속의 기저에 접착할 때 접착 표면의 가장 가까운 곳에서 발견된 단백질로 알려져 있다. 홍합접착단백질은 현재 알려진 어떠한 화학합성 접착제보다도 강력한 자연적인 접착제로 알려져 있으며, 대부분의 에폭시 수지보다 두 배 정도의 커다란 인장강도를 지니고 있으면서도 휘어질 수 있는 유연성을 가지고 있는 혁신적인 물질이므로 접착제 산업계에서 매우 커다란 관심을 끌고 있다. 홍합접착단백질은 플라스틱, 유리, 금속, 테플론 및 생체물질 등의 많은 종류의 표면에 접착할 수 있는 능력을 가지고 있다. 또한 다습한 곳이나 물에서 접착력이 떨어지는 기존 화학접착제와 달리 홍합 생물접착제는 물에 젖을수록 더욱 강력한 접착 능력을 자랑하므로 수중 공사에 획기적인 재료로 응용될 수도 있다. 생체에 사용 시 인간세포를 공격하거나 면역반응을 일으키지 않아 수술시 실로 꿰맬 필요 없이 생체조직의 접착에 이용할 수 있으며 의료용으로 커다란 응용이 가능하다.

2. 항원 (antigen)

- 항원은 면역 반응을 일으켜 특히 항체를 생산하게끔 만드는 물질로서 일반적으로 생명체내에서 이물질로 간주되는 물질의 총체이다. 항원은 주로 병원균이나 바이러스로서 단백질이지만 다당류, 인공적으로 합성된 물질, 부착소, 자신의 몸속에 생긴 변이세포(암세포)등의 다양한 것들도 항원이 될 수 있다.

3. 항체 (antibody)

- 항체는 항원과 특이적 결합을 하여 항원-항체 반응을 일으키는 물질이다. 면역 체계에서 세균이나 바이러스 같은 외부항원들과 특이적 결합을 하여 항원을 인식하게하고 동시에 무력화시키는 작용을 하는 면역글로불린은 면역 항체라고 하는데 보통 항체라고 하면 면역 항체를 뜻한다. 기본 구조는 Y자형의 단백질이며, Y자의 위쪽 두 가지에 항원과 결합할 수 있는 특이적 구조를 가지고 있다. 항체의 갈라진 부분(Y의 가지부분)을 Fab(fragment antigen binding) 조각이라 하고 Y의 끝 부분을 Fc(fragment crystallizable) 조각이라고 한다.

4. 항체결합단백질 (antibody binding protein)

- 항체결합단백질로는 protein A, protein G 그리고 protein L의 세 가지가 밝혀져 있다. 항체결합단백질은 항체의 변형 없이 항체의 Fc 부분과 높은 친화력으로 결합하는 특징을 가지고 있다. 그런데 protein L의 경우 항체의 Fc 부분뿐만 아니라 Fab 부분에도 높은 친화력을 가지고 있다. 항체결합 단백질을 항체 고정화용 링커로서 사용함으로써 얻을 수 있는 장점은 항체를 변형시키지 않음으로 항체의 활성을 감소시키지 않고 항체의 Fc 부분과 결합함으로써 항체를 방향성 있게 고정화할 수 있다는 것이다. 항체를 방향성 있게 고정화한다는 것은 항체의 항원 결합 부위를 항원이 존재하는 표면에 잘 노출시킨다는 것을 의미한다. 이런 장점으로 인해서 많은 면역센서들에서 항체 고정화용 링커로 사용되고 있다. 현재, 항체를 고정화하기 위한 링커로는 protein A, protein G, 또는 protein A/G가 이용되고 있다.

5. 유전자설계 기술

- 의학적, 산업적으로 활용 가능한 다양한 생체소재들 중, 많은 경우에 물성이 매우 뛰어나면서도 불구하고 대량생산이 불가능하다. 유전자설계 기술은 유전공학 기술을 바탕으로 생체소재에 관련된 유전자를 재설계하여 생체소재의 대량생산이 가능하도록 하는 기술이다.

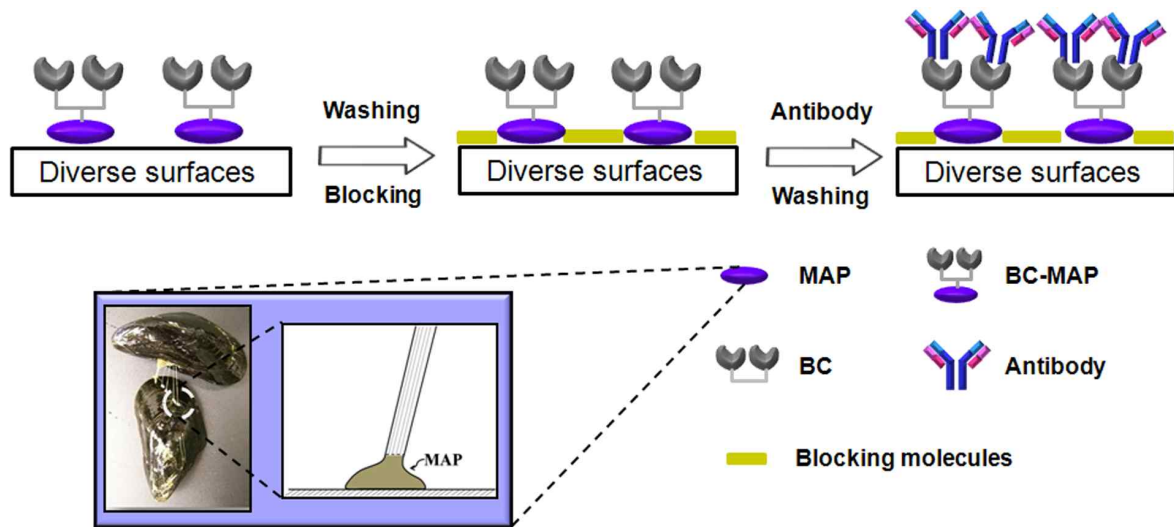
6. 면역센서 (Immunosensor)

- 기존의 면역 분석 방법인 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), western blotting, fluoreimmunoassay, chemiluminescent immunoassay, radioimmunoassay (RIA) 등은 높은 민감도, 특이성 및 정밀도를 가지고 있으나 두 가지 단점을 가지고 있다. 첫째, 여러 단계의 분석과정을 거쳐야하므로 상대적으로 분석시간이 길어진다. 둘째, 상대적으로 고가의 장비와 전문인력에 의한 분석이 요구된다. 따라서 기존의 면역분석 방법을 대체하기 위해 높은 민감도, 선택성을 가지면서, 저가 다중 분석이 가능하고 고처리량을 가지는 집적화되고 소형화된 면역센서의 개발이 이루어지고 있다. 면역센서는 특히, 간편성, 편리성, 다중동시분석 가능성, 온라인 및 실시간 검출 능력, 경제성, 장치의 크기에서 기존의 면역 분석 방법에 비해 장점을 가지고 있다. 이러한 장점 때문에 현재 임상 분야, 환경, 식품 및 국방 분야 등에서 현장 진단 검사를 가능하게 할 기술로 기대되고 있다. 현재 개발된 면역센서는 신호 변환 원리에 따라서 전기화학적, 광학적, 질량 기반 센서 등 세 가지로 분류 되고 있다.

사 진 설 명



1. 기능성 세포접착제 활용 전략



위 그림은 본 연구에서 개발된 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP를 이용하여 항체를 다양한 표면들에 효율적으로 고정화하기 위한 전략도이다. 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP를 구성하는 홍합접착단백질의 접착능력을 이용하여 다양한 표면들에 코팅하고, 항체 결합 단백질을 구성하는 도메인들 중 B와 C는 항체의 Fc 부분과 결합하여 항체를 효율적으로 결합한다. 이러한 두 특징을 가지는 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP를 이용함으로써 전처리 과정 없이 다양한 표면들에 항체를 효율적으로 고정화하게 된다.

2. 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP 제작

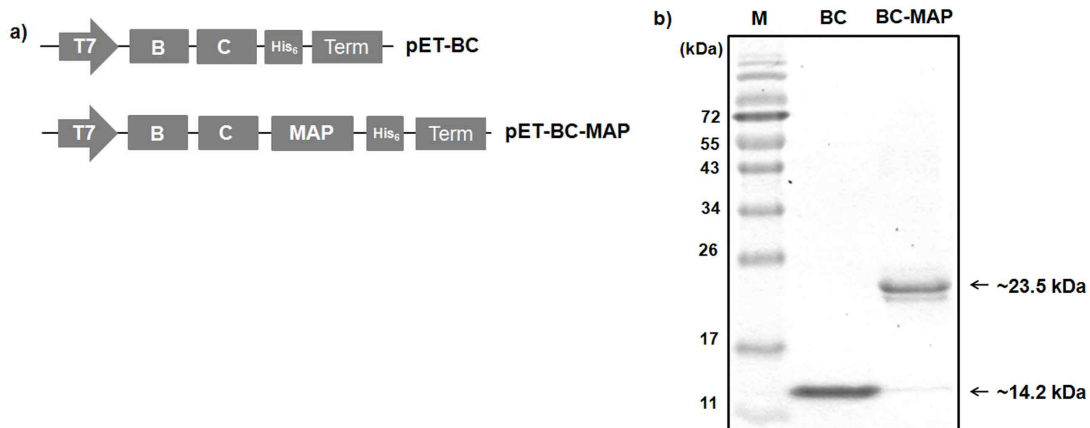
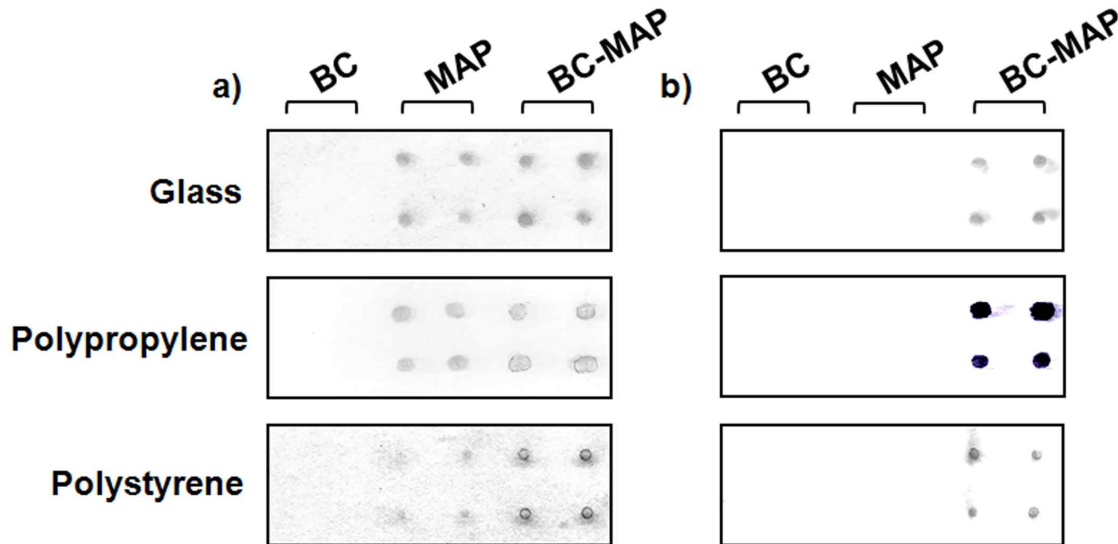


그림 (a)는 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP를 제작하기 위해 융합접착 단백질을 항체 결합 단백질을 구성하는 도메인들 중 B와 C에 도입한 유전자 설계 그림이다. 그림 (b)는 대장균에서 만들어 분리, 정제한 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP의 단백질 밴드를 보여주는 결과이다.

3. 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP의 다양한 표면에서의 코팅 및 항체 고정화 분석



기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP가 다양한 표면들에 코팅되고 그 링커가 코팅된 다양한 표면들에서 항체가 고정화된다는 것을 확인한 결과이다. 그림 (a)는 다양한 표면들에 항체 고정화용 링커가 코팅되는지를 확인한 결과이고 그림 (b)는 다양한 표면들에 코팅된 항체 고정화용 링커가 항체를 고정화한다는 것을 확인한 결과이다. MAP는 홍합접착단백질이고 BC는 항체 결합 단백질을 구성하는 도메인들 중 B와 C 도메인으로 이루어진 것이며, BC-MAP는 기능성 항체 고정화용 링커로써 유전자 재조합으로 홍합접착단백질과 항체 결합 단백질을 구성하는 도메인들 중 B와 C 도메인을 융합한 단백질이다. 그림 (a)를 통해서 항체 고정화용 링커 BC-MAP와 홍합접착단백질 MAP는 다양한 표면에 코팅될 수 있지만 MAP가 없는 BC의 경우 다양한 표면에 코팅될 수 없다는 것을 확인 할 수 있으며, 그림 (b)를 통해서는 항체와 결합할 수 있는 도메인이 있는 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP만이 항체를 고정화시킬 수 있다는 것을 확인할 수 있다.

4. 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP가 코팅된 유리 표면에서의 항원-항체간의 상호작용 분석

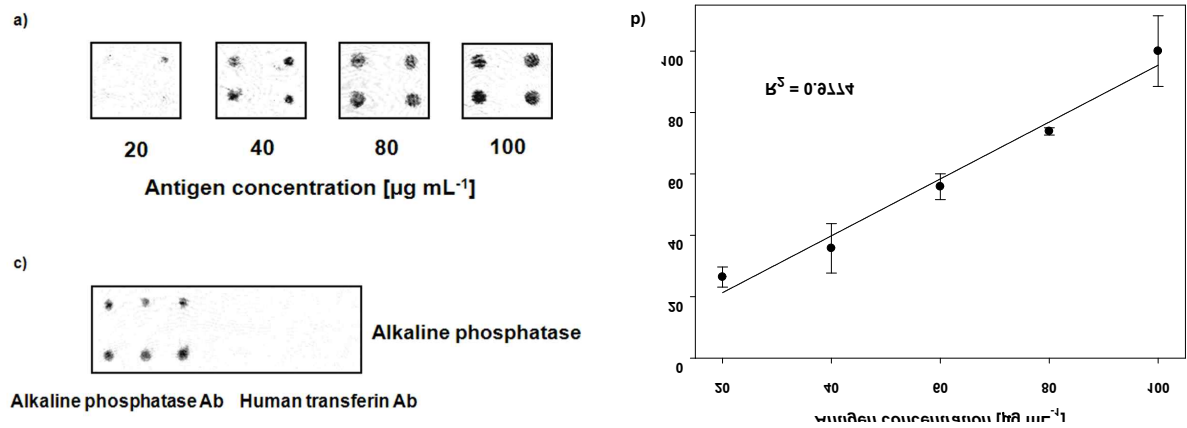
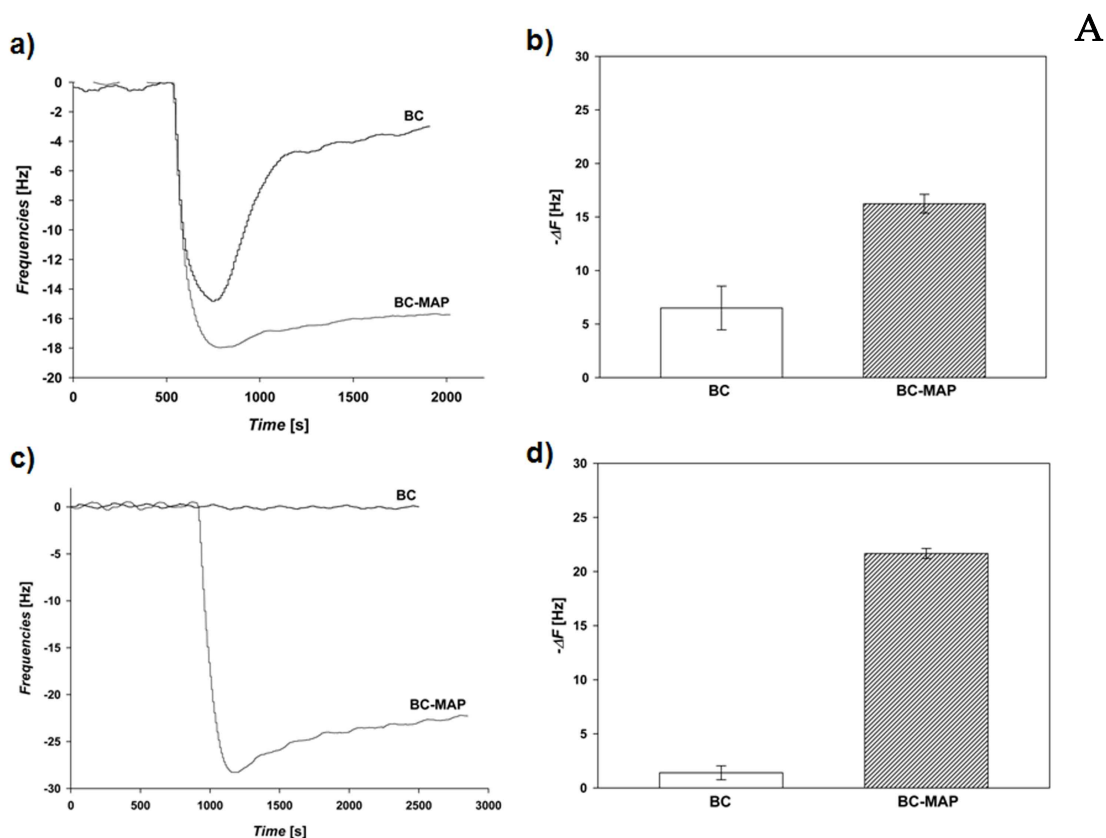


그림 (a)와 (b)는 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP가 코팅된 유리 표면에서의 항원-항체간의 상호작용 및 항원의 농도에 따른 항원-항체간의 상호작용을 정량적으로 분석한 결과이다. 그림 (c)는 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP를 이용하여 제작된 면역센서의 특이성을 확인한 결과이다.

5. 수정진동자마이크로밸런스(Quartz crystal microbalance, QCM)을 이용하여 항체 고정화용 링커의 항체 고정화 효율 분석



Flow rate [$\mu\text{L min}^{-1}$]	Sample	Protein immobilization [Hz]	Surface density [molecule cm^{-2}]	Antibody binding [Hz]	Surface density [molecule cm^{-2}]	Binding efficiency [%]
50	BC	6.5 ± 2.0	4.9×10^{12}	1.4 ± 0.6	9.9×10^{10}	2.0
	BC-MAP	16.2 ± 0.8	7.3×10^{12}	21.7 ± 0.5	1.5×10^{12}	20.5

B

수정진동자마이크로밸런스를 이용하여 항체 고정화용 링커 BC-MAP의 항체 고정화 효율을 분석한 결과이다. 그림 A는 유속이 50 마이크로리터/분 일 때 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP의 항체 고정화 효율을 분석한 것이다. 그림 B는 이를 표로 나타낸 것이다. 기능성 항체 고정화용 링커 BC-MAP가 대조군인 BC 보다 대략 10 배 정도 높은 항체 고정화 효율을 보인다는 것을 확인할 수 있다. BC-MAP의 높은 고정화율이 MAP에 의한 항체 결합이 아니라 BC-MAP의 BC의 방향성에 의한 것이라는 것을 확인하였다.

6. 홍합의 족사(足絲)와 점착단백질

