



즉시 / 2023. 8. 17.(목).

서울대학교 화학부 이현우 교수 (02-880-4390) / 교신저자
UNIST 생명과학과 이창욱 교수 / 공동저자
서울대학교 화학부 프래티쉬 미슈라 (Pratyush Mishra) 연구원 / 제1저자

서울대-UNIST 공동연구팀
공간대사체 레이블링 툴인 GEN-Click 개발
-대사체 연구의 새로운 방법 제시-

서울대학교(총장 유흥림)는 서울대학교 화학부 이현우 교수, UNIST 생명과학과 이창욱 교수 연구팀의 공동연구로 공간대사체를 표지할 수 있는 새로운 근접분자 표지기술인 Gen-Click 반응을 개발하였다.

서울대-UNIST 공동연구팀은 구리-클릭 반응을 활용해 인간세포 내 특정 공간에서 알카인 기와 아자이드 기를 갖는 대사물질을 레이블링 할 수 있는 Gen-Click 반응을 개발하였다. 이 연구를 통해 살아있는 인간 세포의 특정한 공간에 위치하는 대사물질을 선택적으로 레이블링할 수 있는 근접분자 표지기술을 새롭게 제시하였으며, 이 기술을 이용하여 세포간 이동하여 세포표면으로 타겟팅하는 당분자와 콜린 지질분자의 존재를 알아낼 수 있었다. 이러한 새로운 대사체 레이블링 기법은 여러 질병과 관련된 공간대사체 연구에 적용될 수 있을 것으로 기대된다.

프래티쉬 미슈라 박사후연구원 (Pratyush Mishra, 서울대 화학부)이 제1저자로 참여한 이번 연구는 미국화학회 저널인 ‘ACS Central Science’ 온라인 판에 출판됐다. (논문명: GEN-Click: Genetically Encodable Click Reactions for Spatially Restricted Metabolite Labeling, 논문링크: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscentsci.3c00511>).

사람의 세포 안에는 마이크로미터 혹은 그보다 더 작은 크기의 막으로 둘러싸인 다양한 미세공간들이 존재하며 그러한 공간들은 각각 고유의 단백질들, 대사물질들 그리고 핵산 분자들이 존재할 것으로 예상하고 있고 이러한 각 공간을 채우고 있는 분자체들의 존재를 알아내는 일은 생명화학의 연구에서 중요한 숙제로 남아있다. 이러한 생명분자들이 모여있는 특정한 세포 내부의 특정 공간에서 마치 스프레이를 뿌리듯이 단백질 표면작용기에 바이오틴 (biotin)을 무작위적으로 달아주는 근접분자 표지기술 (proximity labeling)은 약 10년전부터 개발되어 현재 단백질체 지도를 구축하는데 중요한 역할을 하고 있지만 세포를 이루는 또다른 중요한 분자들인 지질이나 당을 포함한 대사체에 대한 근접분자 표지기술의 개발은 아직까지 미개척지로 남아있었다.

공간대사체 연구는 기존 생물학 연구에서 주로 다루는 단백질이나 핵산과는 다르게 항체나 형광체 표지 등이 불가능한 경우가 많고 질량 이미징 분석 기법도 세포소기관 이하의 크기의 대사체 분포 이미징은 어렵기 때문에 건강 유지에 필수적인 대사체들이 세포 안에서 어떻게 분포하고 전환되는지에 대한 이해는 매우 부족한 상황이다.

서울대학교 화학부 이현우 교수 연구팀은 이러한 한계점을 극복하고자 세포내 특정 공간에서 아자이드나 알카인기와 특이적으로 반응할 수 있는 구리촉매 반응인 Gen-Click 반응을 개발하였다. 이 Gen-Click 반응을 위해 구리 이온과 강하게 결합한 Cu-BTTAT라는 물질을 새롭게 합성하고 이를 과산화효소인 (APEX)가 발현된 공간의 단백질들에 부착시킴으로 연구자가 원하는 특정한 세포내 공간에서 선택적으로 구리 이온의 촉매반응을 수행할 수 있는 방법이다. 이 방법을 이용하면 특정한 공간에 존재하는 아자이드와 알카인 기를 갖는 대사체나 지질체 분자들만을 구리 촉매 반응을 통해 선택적으로 바이오틴 표지할 수 있게 된다.

이현우 교수는 “Click 반응은 2022년도 노벨화학상을 수상할만큼 현재 생명과학 및 의약학 분야에 광범위하게 쓰여 지금까지 많은 아자이드기나 알카인 기를 갖는 대사체들이 합성된만큼, 앞으로 이러한 대사물질들이 세포내의 각 공간에서 어떻게 전환되는지를 Gen-Click 반응을 이용하여 자

세히 들여다 봄으로써 새로운 공간대사체 연구가 시작될 수 있을 것“이라고 밝혔다.

이 연구는 화학분야의 주요저널인 미국화학회의 ACS Central Science에 보고되었으며, 삼성미래기술육성사업과 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었다.

붙임 : 연구결과

연구결과

□ 연구개요

1. 연구 배경

대사물질 (metabolite)는 당이나 지질분자와 같이 분자량이 작은 단분자로 이루어진 생체분자이며 세포의 막이나 에너지원, 신호전달물질로 그 기능이 매우 다양하다. 대사물질은 세포막 단백질에 의해서 세포 안에 선택적으로 흡수가 되며 흡수된 이후에도 다양한 세포내 수송단백질 및 효소들에 의해서 다양한 대사물질로 전환되는 것으로 알려져 있다.

이러한 대사생화학반응들을 매개하는 효소들이 세포내에 막으로 분리된 미토콘드리아, 소포체, 골지체, 핵, 퍼옥시좀, 리소좀 등의 세포소기관이라고 불리는 공간에서 구획화되어 존재함으로써 대사체들의 분포 및 전환 반응들도 각 세포소기관 별로 공간특이적인 반응이 이루어질 것으로 예상하고 있으나 실험기법의 한계로 인해 공간대사체에 대한 이해는 매우 더디게 이루어지고 있다.

공간대사체 연구는 기존 생물학 연구에서 주로 다루는 물질인 단백질이나 핵산 등의 생체고분자와는 다르게 대사체 단분자를 인지하는 항체가 없는 경우가 많고, 대사체 단분자에 형광체 표지를 하게되면 대사체의 성질을 잃어버리는 경우가 많기 때문에 기존의 생명과학연구에 쓰이는 방법을 적용하기가 어려운 한계점이 있다.

최근 개발된 질량 이미징 분석 기법도 세포소기관 이하의 대사체 분포 이미징은 어렵기 때문에 세포의 기능 유지에 필수적인 대사체들이 세포 안에서 어떻게 세포소기관들에 분포하고 전환되는지에 대한 이해는 매우 부족한 상황이다. 본 연구에서는 알카인, 아자이드 기를 표지할 수 있는 새로운 근접분자 표지기술인 Gen-Click 반응이라는 새로운 근접분자 표지 기술을 개발하여 이러한 공간대사체 분석에 새로운 전기를 마련하고자 하였다.

2. 연구 내용

사람의 세포 안에는 마이크로미터 혹은 그보다 더 작은 크기의 막으로 둘러싸인 다양한 미세공간들이 존재하며 그러한 공간들은 각각 고유의 단백질들, 대사물질들 그리고 핵산 분자들이 존재할 것으로 예상하고 있고 이러한 각 공간을 채우고 있는 분자체들의 존재를 알아내는 일은 생명화학의 연구에서 중요한 숙제로 남아있다.

서울대학교 화학부의 이현우 교수연구실에서는 이러한 생명분자들이 모여있는 특정한 공간에서 마치 스프레이를 뿌리듯이 단백질 표면작용기에 바이오틴 (biotin)을 무작위적으로 달아주는 근접분자 표지기술을 개발하여 현재 단백질체 지도를 구축하는 연구를 진행하고 있지만 현재 개발된 근접분자 표지효소인 APEX나 TurboID로는 이 효소가 만들어내는 스프레이 물질의 반응성의 한계로 대사체나 지질체를 레이블링하지 못하는 한계점이 있다.

서울대 이현우 교수 연구팀은 이러한 한계점을 극복하고자 세포내 특정 공간에서 아자이드나 알카인기와 특이적으로 반응할 수 있는 구리촉매 반응인 Gen-Click 반응을 개발하였다. 이 Gen-Click 반응 개발을 위해 구리 이온과 강하게 결합한 Cu-BTTAT라는 물질을 새롭게 합성하고 이를 과산화효소인 (APEX)가 발현된 공간의 단백질들에 부착시킴으로 연구자가 원하는 특정한 세포내 공간에서 선택적으로 구리 이온의 촉매반응을 수행할 수 있는 Gen-Click 반응 시스템을 살아있는 세포 환경에서 구축할 수 있다.

이후 Gen-Click에 의한 구리-촉매 반응을 이용하면 특정한 공간에 존재하는 아자이드와 알카인 기를 갖는 대사체나 지질체 분자들만을 구리 촉매 반응을 통해 선택적으로 바이오틴 표지할 수 있게 된다. 본 연구에서는 APEX 효소를 세포막에 선택적으로 발현시킴으로 이후 세포막 선택적인 Gen-Click 반응 시스템을 구축하고 이후 세포막에 위치한 아자이드기가 달린 당 분자 (mannose)나 알카인 기가 달린 지질분자 (choline)만을 선택

적으로 바이오틴 표지할 수 있었다. 또한 이 분자들이 간극연접단백질을 통해 세포간 이동할 수 있음을 Gen-Click 반응을 통해 선택적으로 검출할 수 있었다.

3. 기대 효과

아자이드와 알카인 기가 구리 촉매에 의해서 반응하여 서로 결합하는 구리-클릭 (Copper-Click) 반응은 이 반응을 개발한 화학자들이 2022년도 노벨화학상을 수상할만큼 현재 생명과학 및 의약학 분야에 광범위하게 쓰여 지금까지 많은 아자이드기나 알카인 기를 갖는 대사물질들이 화학자들의 노력으로 합성된만큼, 앞으로 이러한 대사체물질들이 세포내의 각 공간에서 어떻게 전환되는지를 Gen-Click 반응을 이용하여 자세히 들여다 볼 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

또한 본 연구에서는 APEX를 이용하여 Gen-Click 반응시스템을 구현하였지만 구리 이온과 강하게 결합하는 리간드를 이용한 다른 인공효소반응 시스템 구축도 가능성을 UNIST 생명과학과 이창욱 교수연구실의 X선 결정구조 연구를 통해서 확인할 수 있었다. 이에 본 연구를 시작으로 구리-클릭 반응을 이용한 다양한 근접분자 표지기술들이 앞으로 개발될 수 있을 것으로 기대할 수 있다.