



한국과학기술 연구원(KIST) 생체대사연구센터, 생화학 연구실

유영숙 (ysyoo@kist.re.kr)

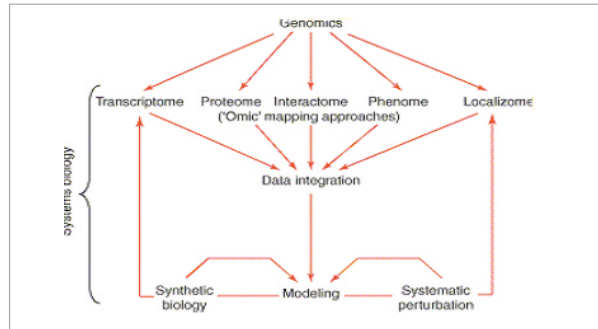
본 연구실은, 서울 도심 안에 있으면서도 아름답기 나무가 울창한 홍릉수목원의 바로 옆에 위치하고 있는, 한국과학기술연구원(KIST) 생체대사연구센터 소속의 생화학 연구실이다. 초록이 우거진 연구원 내의 본 연구실에는 유영숙 박사 (책임연구원, 센터장)의 지도 아래 현재 Post-doc 한 명, 박사과정 학생 세 명 (그 중 두 명은 R&D Academy의 외국학생 즉 인도와 방글라데시에서 온 학생들), 석사과정 학생 세 명과 두 명의 위촉연구원이 활발히 연구 활동을 펼치고 있다. 이러한 인적 구성을 바탕으로, 본 연구실에서는 세포 내 신호전달 기전 연구를 근간으로 다양한 시각에서 보고자 하는 연구가 진행되고 있다. 우선 세포생물학적, 분석학적 접근 방법을 이용하여 세포내 신호 전달기전을 시스템 생물학의 관점에서 살펴보고 있으며, 실제적인 질환과 관련하여 류마티스 관절염의 중요한 치료 타겟을 역시 신호전달기전을 통해 밝혀내려 하고 있다. 또한, 소규모로 진행되고 있는 연구로는, 환경시료 중에서의 내분비계장애물질 (endocrine disrupting chemicals, EDC)의 *in vivo*, *in vitro* bioassay 법을 구축하고 활용하는 연구와 그에 따른 신호전달 기전 연구가 진행되고 있다.

시스템 생물학 (System Biology)

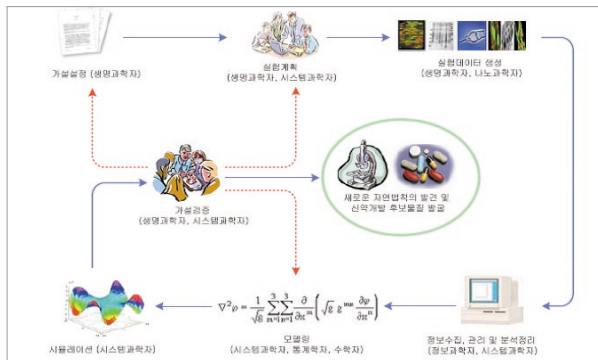
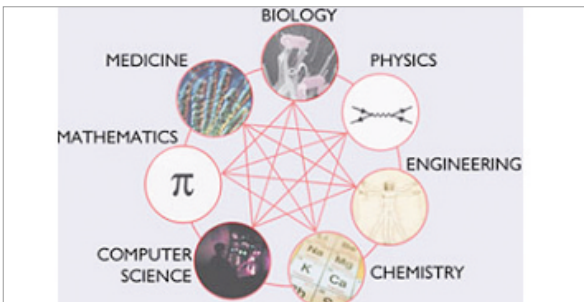
시스템 생물학은 이제까지 이루어진 개개의 실험 결과를 바탕으로, 단순히 하나의 분자나 pathway를 이해하는 것 뿐 아니라 더 나아가 전체적인 시스템 차원에서 이해하고 생각하고자 하는 최근의 연구 주류 중 하나다. 생명체는 단백질과 지방, 탄수화물, 그리고 결정적으로 중요한 유전물질 DNA에 기초해 있다. 이러한 거대분자들은 운반시스템, 생물 촉매, 에너지 변환자, 조절자, 정보담지체 등으로 작

용한다. 이들의 끊임없는 생성과 분해 과정, 다른 기능 요소들과 맺는 역동적인 네트워크가 '생명 시스템' 이다.

이를 위해선 지금까지 전혀 상관이 없는 별개의 학문으로 여겨왔던 수학, 물리학, 컴퓨터 프로그래밍, 공학 등의 다른 학문 분야와의 접목이 상당히 중요하다. 컴퓨터를 이용하여 생명 현상을 모델링하고 시뮬레이션화 할 수 있는 *in silico* 실험의 가능성이 제기되고 있다.



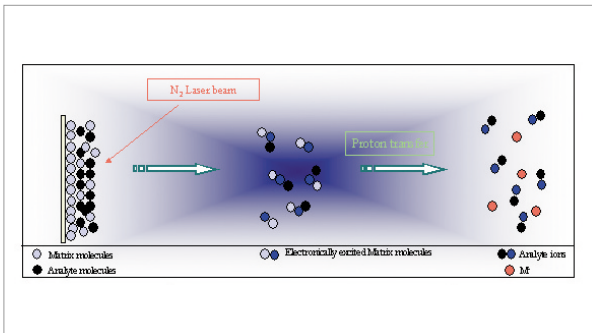
시스템은 말 그대로 하나의 구성요소가 아니므로 방대한 양의 실험 데이터를 기반으로 삼는다. 이에 실험을 미리 최적으로 디자인함으로써 불필요한 *in vitro* 또는 *in vivo* 실험을 줄이고 가장 결정적인 실험만으로 최소화 하여 효율적인 접근을 요구하는 것이다. 시스템 생물학 연구의 출발점은 정량적 (quantitative)인 데이터 획득이다. 기존의 정성적 (qualitative)인 기술에서 벗어나 생물학적 현상을 모델링 (modeling)하고 시뮬레이션 하는 데 사용할 수 있는 데이터가 요구되는 것이다.



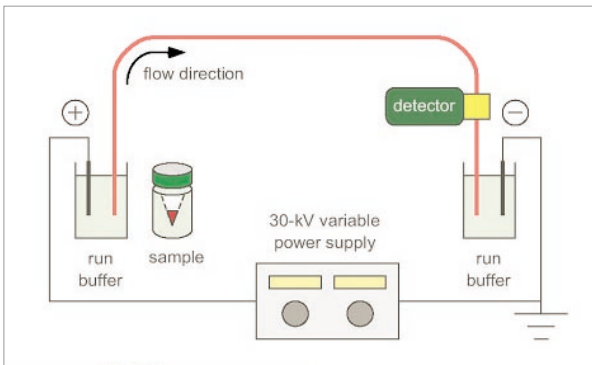
(시스템 생물학의 연구수행 모형)

CE와 MALDI-TOF MS에 의한 분석

Capillary electrophoresis (CE)는 물질의 전하와 분자량의 차이에 의하여 분리가 가능하므로, 단백질이 인산화 된 경우로서 ERK/MAP kinase의 반응 산물을 확인하는데도 성공하였다. 이러한 생체 반응 기전의 새로운 분석법 개발 노력에 힘입어서, PC12 세포가 외부의 자극에 의하여 방출하는 reactive oxygen species (ROS) 와 nitric oxide (NO)를 CE로 측정하는 성과를 거두었다. 이처럼 CE와 MALDI-TOF MS를 활용하여 생체 시료 중에서의 고분자 또는 저분자의 생체 물질 분석법 개발 연구 및 활용은 약 십여 년 전부터 지속적으로 수행 해오고 있다. 최근에는 CE/MS/MS를 도입하여 더욱 정확성을 부여하고자 한다.



(MALDI-TOF MS의 기본 원리)



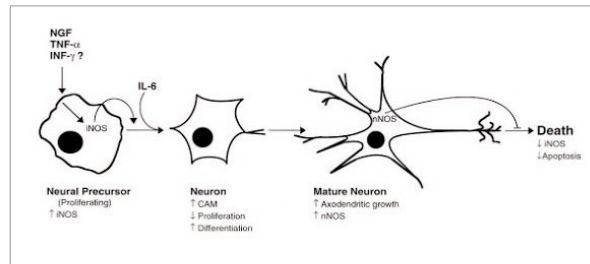
(CE의 기본 원리)

본 연구실에서는 세포 내 신호전달 기전을 중심으로 한 정량적인 데이터 획득을 이루어 시스템 생물학 연구에 참여하고 있다. 우선, 세포의 생존과 사멸에 관한 연구를 세포생물학적, 분자생물학적인 실험 결과와 함께 비교하고 있다. Cytokine인 TNF- α 나 IFN- γ 에 의하여 PC12의 생존에 관련된 survival factor인 Akt의 인산화와 그 activity 정도, 더 나아가 정확한 양적인 변화를 정량적으로 측정하는데 CE, MALDI-TOF MS, CE/MS/MS를 사용하고 있다. 이들은 보다 유용하게 미량의 세포내 분자도 확인 할 수 있으며 또한 이 세 가지의 결과와 함께 분자생물학적인 실험의 결과로 분석생화학과 세포생물학의 접목을 이룰 수 있을 것이다.

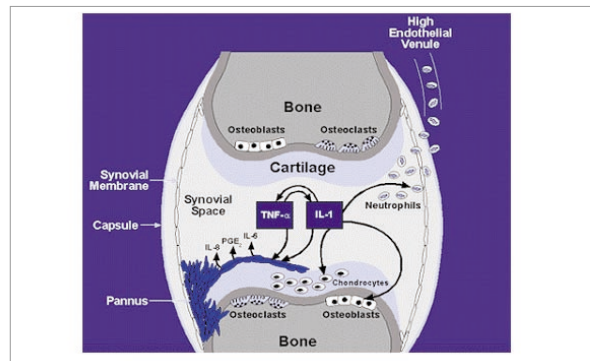
세포내 신호전달 기전연구

세포는 외부의 신호나 여러 종류의 자극에 대해 반응을 보인다. 다양한 세포의 반응성 중에서도 본 연구실에서 주로 초점을 맞추고 있는 것은 세포의 증식 (proliferation), 분화 (differentiation)와 사멸 (cell death, Apoptosis)이다. 주로 PC12 세포주를 사용하고, 관절염 환자로 부터 얻은 MH7A 세포와 인체 유방암 환자로 부터 유래된 MCF-7으로 연구를 하고 있다.

PC12 세포의 nerve growth factor (NGF)에 의한 분화 시 phospholipase A2의 관여를 확인하였으며, TNF- α 나 IFN- γ 등의 cytokines에 의하여 활성화 되어지는 것으로 알려진 p38 MAP kinase가 AKT/PKB와 상호작용을 하고 있음을 증명함으로써 p38 MAP kinase가 cell death보다는 cell survival pathway에 관여 할 가능성을 제시하였다. 이 뿐 아니라 UV에 의한 stress 자극에 대하여 PC12 세포가 반응하는데 p38 MAP kinase와 STAT1이 관여함을 밝힘으로써 MAP kinase signaling pathway 와 STAT signaling pathway 간의 cross-talk을 제시하였다. 또한 성장인자 (NGF, EGF)에 의한 MAP kinase의 translocation과, MAP kinase (ERK)와 MAP kinase kinase (MEK)의 interaction도 살펴보고 있다.

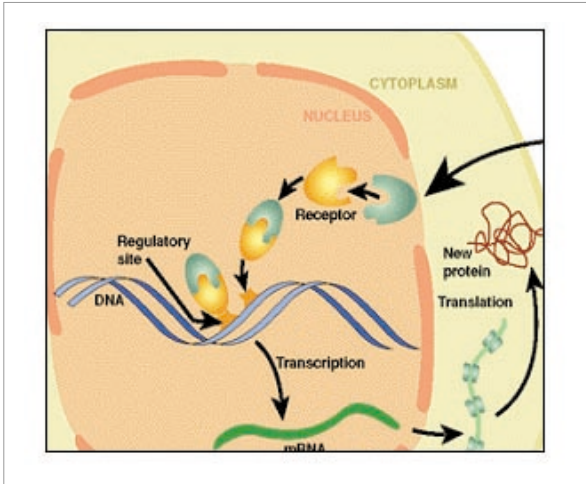


그리고 TNF- α 나 IFN- γ 와 같은 cytokine이 세포의 사멸에 관여한다는 사실을 근거로, 이와 같은 cytokine을 처리한 PC12 세포의 사멸에 관여하는 Akt의 인산화 및 활성을 분자생물학적으로 확인하였다. 또한 세포의 morphology 상의 변화와 PC12 세포의 특적인 neurite outgrowth 까지 확인하여 이를 분석학적인 Akt의 변화 양상과 비교하고 있다.



이 뿐만 아니라 류마티스 관절염 환자의 세포주인 MH7A (fibroblast-like synoviocyte)를 도입하여 IL-1 β 에 의한 p38의 인산

화와 그 활성을 보았으며, 그로 인해 염증반응에 관여하는 유전자가 발현함을 살펴보았다. 그 중에서도 염증성과 항염증성의 성질을 둘 다 보이는 interleukin-6 (IL-6)가 STAT을 활성화시킴으로 그 후의 반응을 주목하고 있다. 이러한 결과들을 통하여 류마티스 관절염의 효과적인 치료제 개발을 위한 기반 마련에도 주력하고 있다.



그 외에도 breast cancer cell 인 MCF-7세포는 환경시료 중에서의 내분비계장애물질(endocrine disrupting chemicals, EDC)의 *in vitro* bioassay 법을 구축하는데 유용하다. 지금까지 estrogen이

estrogen sensitive cell line의 proliferating repressing factor에 저해 효과를 나타내어 세포의 증식을 야기한다는 사실을 근거로 하여, MCF-7 세포에서 EDC의 estrogenicity를 검색 할 수 있는 cell proliferation assay를 구축하였다. 그리고 Estrogen response gene 을 reporter system에 도입한 MCF-7 세포주로 ER-mediated transcription을 파악할 수 있는 gene expression assay도 고안하였다. 이들을 근간으로 EDC의 일종으로 알려진 phytoestrogen 중 genistein의 농도에 따른 MCF-7 세포의 증식이나 사멸에 이르는 기전 상에서의 signaling molecules들의 조절 및 상호작용에 관한 기전도 연구하고 있다.

이상과 같은 연구들을 수행하는 데에는 본 연구실에서의 성과뿐 아니라 다른 연구팀과의 활발한 교류가 필수적이다. 실제 KIST의 생체 대사연구센터 내의 다른 여러 팀에서 본 연구에 동참하고 있다. 정봉철 박사팀에서는 mass spectrometry를 이용한 정량분석 연구를, 윤창노 박사팀에서는 computer simulation을 수행함으로써 본 연구실의 세포생물학적, 분석생화학적 systems biology를 연구하는데 기여하고 있다. 또한, 류마티스 관절염의 치료제 개발을 위한 기전연구를 위해서는 권오승 박사팀에서 이에 관련되는 약리작용을 실제 *in vivo*에서의 연구를 기획하고 있다. 그리고 (주)마이크로비아의 이세윤 연구소장 팀에서는 류마티스 관절염 내의 cytokine의 기전 연구에 참여하고 있다. 그리고 이스라엘 와이즈만 연구소의 Rony Seger 박사 팀과는 지난 1997년부터 MAP kinase cascade에 관련된 세포내 신호전달기전 연구에 관련하여 유기적인 연구 협력을 수행해 오고 있다.

믿을 수 있는 Takara 합성 DNA

- 1. 고품질** - 귀하의 소중한 실험을 위해 TaKaRa 합성 DNA는 정품의 시약 및 컬럼만을 사용합니다.
- 2. 신속** - 전국 어디서나 빠르고 정확한 택배서비스로 납품하여 드립니다.
- 3. 다양한 서비스** - 50 nmol, 200 nmol, 대량합성, 수식합성 등 고객이 원하는 대로 합성합니다.
- 4. 편리한 주문** - 지역별 전문대리점, e-mail 또는 인터넷을 이용하여 온라인으로 주문할 수 있습니다.
- 5. 믿을 수 있는 기술지원 서비스** - 언제 어디서나 무엇이든 전문가가 상의하여 드립니다.

50 nmol(2 OD 보증) PCR Grade	
1~250 mer	→ 1,000원/base
251~2,000 mer	→ 800원/base
2,001 mer 이상	→ 600원/base

200 nmol(8 OD 보증) PCR Grade	
1~250 mer	→ 1,400원/base
251~2,000 mer	→ 1,300원/base
2,001 mer 이상	→ 1,200원/base

정제료(최종 1 OD 보증), SEQ Grade → 30,000원