

2. 단백질칩

가. 서론

생체 구성 성분 중 가장 다양하면서 중심적인 기능을 수행하는 단백질들에 대한 연구는 전통적으로 개별 단백질의 동정과 그 기능 및 조절 기작 규명에 초점을 맞추어 수행되어 왔다. 최근 인간 유전체의 구조가 대부분 밝혀지면서 인체를 구성하는 유전자의 기능연구에 대한 관심이 급증하고, 방대한 양의 정보가 축적되기 시작하면서 단백질 관련 기술 동향은 점차 대규모화, 고효율화 되는 추세를 보이고 있다. 단백질은 생명현상을 표현하는 최종 매개체이며 유전자가 가진 정보보다 많은 양의 정보를 표현할 수 있다. 즉, 한 유전자로부터 다양한 단백질이 만들어지며 합성된 단백질 사이에서의 단백질-단백질 상호작용에서의 차이, 단백질 변형과정에서의 차이, 그리고 세포 내 분포에서의 차이 등에 따라 다양한 기능을 가진 단백질이 발현된다. 또한, 대부분의 질병이 유전자 수준이 아닌 단백질 수준에서 유발되기 때문에 현재까지 개발되었거나 개발 중에 있는 의약품의 95% 이상이 단백질을 타겟으로 하고 있다. 따라서, 특정 단백질이나 리간드(ligand)와 특이적으로 상호 작용하는 생체분자의 기능이나 역할을 밝히고, 단백질 기능 분석 및 네트워크 분석으로 얻어진 자료를 바탕으로 고전적인 방법으로는 불가능하였던 질병에 대한 치료 및 예방법을 개발하는 연구는 생명과학, 보건 및 의료 분야 등에서의 주된 과제이다. 이러한 proteomics 연구와 진단분야에 필수적으로 이용될 수 있는 핵심기술이 단백질칩이다. 단백질칩은 작은 기판이나 슬라이드에 수십~수백 개이상의 단백질을 붙여 놓은 것으로 동시다발적으로 단백질의 결합을 분석하는 데 사용된다. 단백질칩은 단백질의 발현 및 기능연구, 단백질의 상호작용 연구 등 proteomics 연구 분야와 신약후보물질 발굴, lead generation, 신약 효능검색 등의 신약개

발 분야, 그리고, 질병의 진단 및 biomarker 발굴 등의 진단 분야와 같이 생명공학, 보건 의료, 제약 산업에서 광범위하게 이용될 수 있다. 단백질칩 개발 기술은 생물, 화학, 전자, 재료, 기계공학 등 여러 학문이 연계된 첨단기술의 총체로서 단백질 공학 및 나노바이오텍기술 (nanobiotechnology), 표면처리 및 단백질 패터닝 기술, 미세가공 및 MEMS (microelectromechanical system)기술, microfluidics 기술, 바이오센서 기술, 생물정보학 (bioinformatics) 등이 상호 접목되어야 한다. 본 장에서는 이러한 단백질칩 기술의 최신 동향에 대해 서술하기로 한다.

나. 단백질칩의 정의 및 기술분류

1) 단백질칩과 바이오칩

가) 단백질칩의 개념

일반적으로 생물학적 활성을 갖고 있는 분자를 고체상태의 소형 박막에 공유결합 또는 비 공유결합 형태로 부착시킨 모든 재료를 바이오칩 (biochip)이라 부르는데, 최근에는 생물학적 분자들의 정량 및 정성 분석을 위한 미세장비까지도 포함시켜 일컫는 경향이 있다. 바이오칩은 고체기판 위에 형성되는 박막재료와 분석하고자 하는 대상에 따라 그 명명을 달리할 수 있는데 단백질칩은 DNA 칩, 세포 칩 등과 같이 바이오칩을 생체물질에 따라 분류할 때의 한 범주에 속한다. 단백질칩은 특정 단백질과 반응할 수 있는 수십에서 수백 종류 이상의 서로 다른 단백질이나 리간드 등을 고체 (금속, 유리, 플라스틱 등) 표면에 마이크로어레이화 시킨 후, 이들과 특이적으로 상호 반응하는 생체분자의 존재, 또는 기능 및 역할을 형광, SPR, 질량분석기 등의 여러 가지 분석

방법을 이용하여 대량으로 신속하게 분석하는 장치를 의미한다. 바이오 칩관점에서 보면 단백질칩은 시료 전처리 부분과 신호처리까지 포함하여 보다 넓은 의미로 정의될 수 있다. 그러나, 현재는 단순히 슬라이드 유리 표면에 고정적화된 DNA microarray와 비슷한 형태를 protein microarray, protein biochip 등으로 많이 통용하고 있다. 본 바이오칩 신기술조사서에서는 단백질이 이차원 평면상에 단순히 바둑판 형태로 배열된 antibody array, peptide array, protein array에서부터 시료전처리 기능이 구현된 microfluidic 단백질칩까지 포함하는 기술을 총괄적으로 단백질칩이라 정의하고, 현재 proteome 분석 및 진단용 목적으로 사용되는 단백질칩의 세부 기술 및 응용분야를 중심으로 최근의 동향을 서술하기로 한다. 단백질칩은 단백질만이 갖는 고도의 선택성과 칩이라는 관점에서의 대량 스크리닝 기능이 있기 때문에 단백질의 분리, 확인, 정량 및 기능 해석에 이르는 일련의 단백질 분석작업을 칩상에서 수행할 수 있는 잠재성이 있고, 질병의 원인 규명을 유전자 수준에서 단백질 수준까지 확대 규명하는 proteomics 연구분야와 진단용 바이오센서 분야에 널리 활용될 전망이다.

나) 단백질칩과 DNA 칩의 차이점

DNA 칩은 특정 유전자를 검출하거나 혹은 세포의 유전자 활성을 정량 및 정성분석 하는데 유용하게 사용되고 있다. DNA 칩 기술은 SNP typing 및 돌연변이 검색에의 응용 외에도 세포 내에서 발현되는 mRNA를 정성 및 정량 분석함으로써 간접적으로 단백질 발현에 대한 자료를 얻을 수 있다. 그러나 일반적으로 고등동물의 단백질은 mRNA 정보에 의하여 일정 서열의 아미노산이 합성된 후에 인산화되거나 당질이 결합되는 등 여러 가지로 변형된다. 또한 mRNA의 세포질내 분해 속도 및 번역(translation) 효율성은 mRNA 종류별로 다를 뿐 아니라

단백질 자체의 분해속도가 다르므로 세포질내와 세포막에 발현되거나 혹은 세포밖으로 분비되는 단백질의 양은 mRNA 발현준위와 직접적인 연관성이 낮다. 많은 질병이 전사후 조절이나 단백질 생성, 그리고 세포내 단백질 분포에서의 차이 등으로부터 유발되는데 mRNA만 가지고는 이런 정보를 얻기가 힘들다는 단점이 있다. 반면, 단백질칩 기술은 단백질-단백질 상호작용에 의한 세포신호 기작 및 조절에 대한 이해와 효소-기질 (혹은 저해제) 상호작용, 리간드-drug 상호작용 등에 대한 정보를 제공해 줄 수 있다. DNA 칩과 달리 mRNA에서 단백질 생성시 유발되는 mutation의 검출도 가능하고, phosphorylation, oxidation 등과 같은 post-translational modification에 관한 정보 등 단백질에 대한 총체적인 정보를 얻을 수 있는 장점이 있다.

현재 DNA 칩이 점차적으로 그 사용이 확산되어가고 있지만 한 세포의 특성은 궁극적으로는 단백질에 의해 결정되어진다는 점을 고려한다면 신약을 개발하거나 단백질의 기능 분석에 이용될 수 있는 단백질칩의 중요성은 매우 크다고 할 수 있다.

2) 단백질칩의 세부 기술

가) 단백질칩 기술의 분류

단백질칩 기술은 칩의 제조와 관련된 protein microarray 기술과 array 상태로 고정화된 단백질과 관찰하고자 하는 단백질간의 상호반응 정도를 정량적으로 검출하고 비교하는 분석기술로 세분할 수 있다. 여기서 protein microarray 기술은 단백질을 고체 표면에 고정화하기 위한 표면처리 기술, 고순도의 단백질 정제 및 peptide 합성기술, 단백질 감지부위에 해당하는 항체, 리셉터/리간드, 효소/기질, 저분자화합물들의 선별 및 어레이 기술로 세분할 수 있다. 분석기술은 형광, 화학발

광, 질량분석, SPR 등 기존의 검출기술을 이용하는 측정기술과 이를 진 단, proteomics 연구, HTS (high throughput screening) 등에 활용하는 응용기술로 나눌 수 있다. 단백질칩 기술을 5단계로 구분한다면 그림 2-17과 같이 설명되며, 이하 단백질 probe 제작 및 표면처리 기술, microarray 제조기술, 측정 기술에 대한 개괄적인 설명을 하면 다음과 같다.

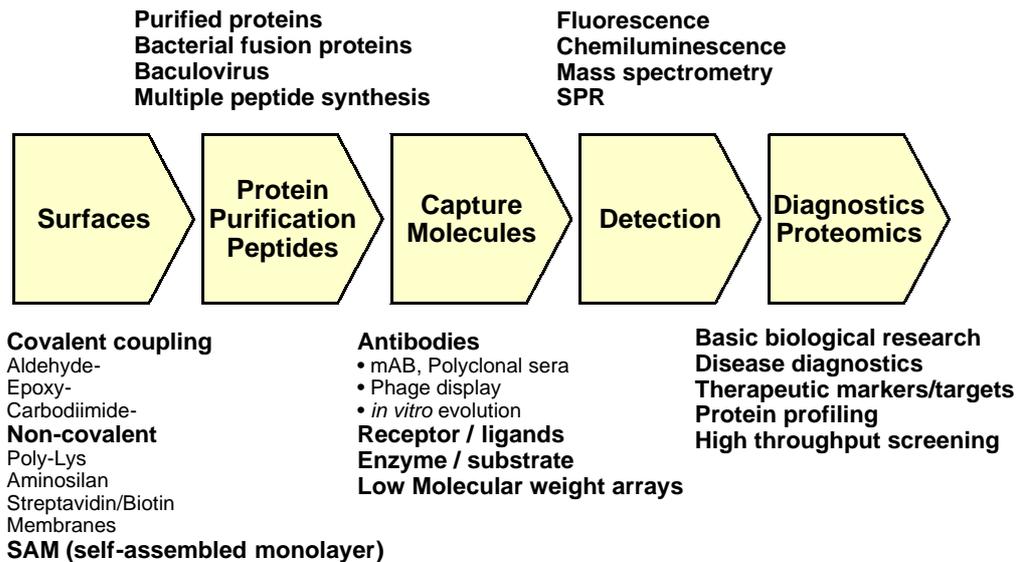


그림 2-17 단백질칩 기술의 5가지 분류

나) 단백질 probe 제작 및 표면처리 기술

단백질칩은 감지해야하는 단백질이나 항체들이 다양하므로 칩 표면에 antibody, peptide, ligand, aptamer 등 여러 probe들을 개발하고 이를 표면에 고정시키는 기술과 고체 표면에의 고정화에 따른 생물학적 활성의 상실, 비특이적 표면고정화, 상대적으로 낮은 생체활성 물질의 표면 농도, 표면이탈에 따른 분석신호의 소멸 등의 기술적 어려움을 해결하는 연구가 필요하다.

미지의 시료로부터 특정 단백질의 실체를 파악하기 위해서는 타겟(target) 단백질과 선택적으로 결합할 수 있는 수용체(receptor)가 필요한데 그 중 대표적으로 사용되는 것이 항원-항체의 특이선택적 반응을 나타내는 단일클론항체(monoclonal antibody)이다. 단일클론항체는 많은 질병을 진단하고 치료하는 데 사용되는 순수하고 균일하며 감도가 높은 항체이다. 쥐의 경우, 비장(spleen)을 제거하고 현탁하면 임파세포(lymphocyte)를 얻게 된다. 임파세포와 골수종세포(myeloma cell)가 융합되면 임파세포의 항체생산 능력과 골수종세포의 무한 증식능력을 가진 순수한 하이브리도마(hybridoma) 세포가 생성되고, 이를 분리, 증식하면 단일 항체를 생산할 수 있다. 최근 phage display 기술을 이용하여 펩타이드 및 항체 라이브러리를 탐색하고 대량검색하는 기술이 발전하고 있다. Phage display 기술은 박테리오파아지의 표면 단백질과 외래단백질 또는 펩타이드를 융합시켜서 살아있는 바이러스 표면에 발현시키는 기술이다(2000년 신기술동향조사 보고서 “기능성효소” 108-136쪽 참조).

단백질칩의 표면은 초미량의 특정 생물학적 물질에 대하여 선택적인 affinity를 바탕으로 분석대상물질을 인식하고 이로부터 감지 가능한 신호를 발생시키는 부분이다. 단백질의 구조 및 기능을 유지하면서 수십에서 수백 종류에 이르는 생체분자를 간편하게 패터닝하여 microarray 형태로 집적시킬 수 있는 기술의 확립이 필요하다. 따라서 생체분자의 배향성을 분자수준에서 조절하여 생체분자 인식부위가 보존되면서, 균일하고 안정한 생체분자의 monolayer를 단백질칩 표면에 형성시키고, 생체분자사이에 steric hindrance가 발생하지 않도록 생체분자의 밀도를 조절하는 데 유의해야 한다. 또한, 비 특이적으로 흡착되는 단백질이나 리간드 등은 단백질칩의 분석능과 민감도를 크게 저하시키므로 단백질칩 표면의 화학적 특성을 조절하여 비 특이적 흡착이 최소화 되도록 해야 한다.

특정단백질을 DNA microarray의 경우와 같이 spotting 하여 유리 슬라이드 등의 고체 표면에 고정할 때는 amine 결합이 가장 보편적으로 이용되는 반면, 금속표면에 단백질을 고정화하는 경우는 마이크로스탬핑(microstamping) 등의 패터닝이 용이한 자기조립 (self assembly) 방법이 많이 이용되고 있다. 이 경우 단백질의 고정화는 thiol 결합이나 avidin-biotin 결합을 이용하거나 수용체와 단백질 칩 표면과의 친수성, 소수성, 이온교환성 성질을 이용할 수 있다. 또한, 수용체(항체)와 고체 기판 사이에 polylysine과 같은 중간 매개체를 이용하여 단백질 고정화 시 단백질의 배향성을 조절할 수 있다.

다) Protein microarray 제조기술

단백질칩은 세포안에서의 단백질의 편재화, 단백질과 단백질사이의 상호작용, 단백질과 리간드 사이의 상호작용, 실제 생명체의 기능을 수행하는 단백질의 활성분석 등에 활용이 가능하며, 무엇보다도 전체 단백질체를 한번에 빠른 시간에 분석할 수 있다. 그러나, DNA 칩과는 달리 단백질 자체의 불안정성, 3차원적 구조로 인한 배열에 따른 공간적 장애, 각 spot들 사이의 교차 오염의 가능성 등 문제점들이 많아 단백질을 고체표면에 고정시킬 때 주의해야 할 점이 많다. 고체표면에 단백질을 어레이화 시킬 때 일반적으로 DNA 칩 제조시와 유사한 자동화된 마이크로어레이어(microarrayer)를 사용하면 된다. 잉크젯프린팅에 의해서도 protein array를 제조할 수 있다. 단백질칩용 기판으로는 유리 슬라이드, 다공성 겔 패드(porous gel pad) 슬라이드, 플라스틱재질을 이용한 마이크로웰(microwell) 등이 대표적으로 사용되고 있다 (그림 2-18).

Glass slides	Matrix slides	Microwells
Compatible with standard Microarrayer and detection equipment	Compatible with standard Microarrayer and detection equipment	Compatible with standard Microarrayer and detection equipment but requires alignment
High evaporation	Reduce evaporation	Reduce evaporation
Poor for multiple-based reactions	Solution-based reaction can be carried out, but requires longer washing times for material	Versatile for solution-based assays; multiple-component reactions
Inexpensive	Expensive	Inexpensive
Possible cross-contamination	No cross-contamination	No cross-contamination

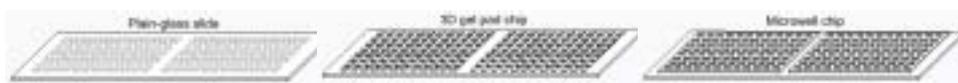


그림 2-18 Protein microarray의 세가지 형태 및 특징 비교

첫 번째, 유리 슬라이드는 DNA chip 제조 및 분석에 사용되고 있는 상용화된 마이크로어레이어 및 스캐너를 똑 같이 사용할 수 있다는 장점이 있다. 이미, 2000년 Science 지에 발표된 바와 같이 MacBeath와 Schreiber는 단백질의 아민기와 반응하여 결합을 할 수 있는 crosslinking agent를 가지고 슬라이드 글라스를 전처리 한 후, 마이크로어레이어를 사용하여 DNA 칩을 제작할 때와 같은 방식으로 protein microarray를 제작한 바 있다. 이때 단백질의 안정성을 유지시키기 위하여 spotting 하고자 하는 단백질은 40% glycerol 용액을 가지고 처리하여 단백질이 건조되는 것을 막았다. 세 종류의 protein-protein interaction, 세 종류의 kinase-substrate 반응, 세 종류의 protein-ligand 결합반응을 통해 단백질 대량검색, 생화학적 분석, 신약 후보물질 분석 등의 protein microarray 응용성을 검증한 바 있다. 이 방법은 DNA microarrayer 설비를 갖춘 곳에서는 protein microarray를 비교적 손쉽게 제조할 수 있고 경제적이라는 장점은 있으나, 각 spot 들 사이의 교

차 오염 가능성 및 단백질 반응의 민감도가 떨어지는 단점이 있었다. Ward 등의 연구진들도 유리 슬라이드를 이용하여 human IgE, human prostate-specific Ag 등의 항원 단백질을 검출하는 데 사용한 바 있다. 이들은 자동화된 마이크로레이어를 이용하여 고밀도로 분석물질을 유리 슬라이드에 spotting 하였고, oligonucleotide primer가 붙어 있는 항체를 이용하여 신호를 증폭하는 RCA(rolling circle amplification) 방법을 사용하여 단백질을 분석하였다. 고감도와 넓은 측정범위, spot-to-spot reproducibility 도 우수하였다고 보고한 바 있다.

두 번째, 유리판 표면의 다공성 3D gel 패드상에 3차원적으로 단백질을 어레이 시키는 기술로 Mirzabekov 등의 연구진들이 발표한 방법이다. 이는 silane 처리된 슬라이드 글라스 위에 3% polyacrylamide gel과 gel의 다공성을 향상시키기 위한 crosslinker인 N,N'-(1,2-dihydroxyethylene) bisacrylamide (DHEBA)와의 혼합물을 먼저 어레이 시킨 후에 그 안에 단백질을 고정화시킴으로서 단백질을 $100 \times 100 \times 20 \mu\text{m}$ 크기에 $200 \mu\text{m}$ 간격으로 어레이 시켰다. 이 방법은 3D gel 패드를 사용함으로써 단백질의 안정성을 향상시킬 수 있으며, 각 spot 간의 교차 반응을 최소화시킬 수 있다는 장점이 있는 반면, 단백질의 반응을 최적화시킬 수 있는 환경조건(buffer 용액의 변화)을 유도할 수 없고, 경제성이 떨어진다는 단점이 있다.

세 번째, 마이크로웰(microwell)을 이용하여 단백질을 어레이 시키는 기술로서, 미국 예일대 연구팀에 의해 96-well 형태로 개발되었다. 먼저 실리콘 마스터로 형성된 마이크로웰 주형과 PDMS (polydimethylsiloxane)를 이용하여 플라스틱 재질의 마이크로웰을 제작하고, 단백질을 고정화시키기 전에 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane (GPTS)을 가지고 마이크로웰을 처리하여 단백질의 아민기와 공유결합을 유도하였다. 단백질을 마이크로웰 안에 고정화시킨 후, 단백질의 안정성을 유지시키기 위하여 1% bovine serum albumin(BSA)과 tris-buffered saline(TBS) 완

층액을 가지고 연속적으로 처리함으로써 protein microarray를 제작하였다. 이는 앞서 두가지 형태의 protein microarray가 갖는 장점들을 포함하고, 단점들을 극복할 수 있는 방법으로 평가되고 있다. PDMS로 이루어진 플라스틱 마이크로웰의 구조는 마이크로몰딩에 의해 값싸게 제조할 수 있어 kinase 활성 분석의 예와 같이 생화학적 분석 및 신약 스크리닝 등에 널리 활용될 수 있는 기술이다. 그밖에 microarray 제조기술에 관해서는 라항의 선진회사 현황에서 설명하기로 한다.

라) 단백질칩의 측정 기술

유전자 분석을 위한 DNA 칩의 경우에는 극미량의 특정 유전자를 PCR (polymerase chain reaction) 방법으로 증폭하여 분석 가능한 양으로 만들 수 있지만, 단백질의 경우에는 환자의 조직, 혈액, 타액 혹은 기타 생물학적 시료로부터 단백질의 절대량을 증폭시키기가 현재의 기술로는 불가능하다. 따라서, 극소량의 특정 단백질을 검출, 정량하기 위해서는 정밀도가 높은 새로운 분석장치가 필요한데, 현재까지 proteome 연구를 이끌어온 대표적인 분석기술은 2차원 전기영동법이다. 최근 MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) - TOF (time-of-flight) MS (mass spectrometry)의 기술혁신으로 고속화단계에 접어들었으나, 아직 대부분의 실험실은 2차원 전기영동법에 의존하고 있다. 2차원 전기영동법은 낮은 재현성, 알칼리성단백질과 고분자 단백질의 저분리능, 불완전한 자동화 등의 여러 한계점을 안고 있어, 향후 신약개발 등에 활용하기 위해서는 자동화된 대량분석법의 등장이 요구된다.

단백질칩을 이용하여 비교적 간단한 분석을 수행하는 경우 DNA 칩에서와 같이 형광물질을 붙인 시료를 이용한 레이저스캐너 방법을 사용해도 된다. 그러나, 단백질칩의 경우 형광물질로 단백질 시료를 처리하는 과정이 필요 없고, 고체 표면에 고정화된 단백질의 정량이 용이한 SELDI (surface-enhanced laser desorption/ionization)-TOF 방법을 적

용한 질량분석기와 SPR (surface plasmon resonance) 기기가 유리하다. 이들 방법에 대해 좀더 자세히 서술하면 다음과 같다.

(1) MALDI-TOF과 SELDI-TOF방식의 MS

MALDI-TOF 방법은 분자량이 비교적 큰 시료와 매트릭스가 혼합된 결정에 순간적으로 레이저를 조사하여 이온화시킨 후, 이온들을 TOF (time-of-flight) MS를 통과시켜 검출기까지 도달하는 시간을 측정하여 분자량을 얻는 방법이다. 즉, 생체 고분자와 같은 비휘발성, 열적 불안정성을 갖는 시료의 분자량을 측정하기 위하여 시료를 자외선 발광 흡수체인 유기 화합물 매트릭스에 시료를 희석 분산시킨 후, 짧고 강한 펄스 레이저를 입사시켜 순간적인 상변화와 탈착 이온화를 유도하며, 이때 생성되는 유사-분자이온을 검출하여 분자량을 측정하게 된다. 분자량을 모르는 이온에 일정한 에너지를 가한 후, 이미 알고 있는 거리를 날아가는 데 걸리는 시간을 측정하게 되면, 그 이온의 분자량을 측정할 수 있게 된다. 고분자 합성 시료 및 생체물질(단백질, 핵산, 탄수화물)의 분자량을 측정하고, 핵산 및 단백질의 분해에 의한 서열 분석, 미량의 생화학 및 석유화학 혼합물의 분자량 측정에 이용된다.

MALDI-TOF MS는 femtomole에서 picomole 수준의 분석이 가능하고, 버퍼나 염에서 변성하기 쉬운 시료의 분석이 용이한 장점이 있으나, 약한 이온화 기법으로 조사된 레이저 에너지가 결정화된 매트릭스를 통해 시료로 전달되어 이온화되므로 적당한 매트릭스의 선정 및 최적의 결정화가 실험 결과에 매우 중요한 영향을 미치게 된다.

단백질칩의 경우 MALDI-TOF과 유사한 SELDI-TOF MS 측정방식이 현재 널리 사용되고 있다. 이러한 SELDI 방법은 미국 Los Altos에 있는 Molecular Analytical Systems (MAS)사에서 원천기술을 갖고 있는데, 크로마토그래픽 표면 처리를 한 protein microarray 위에서 직접

시료 단백질의 정제 과정을 거친 후, 표적 단백질을 레이저로 탈착 이온화하여 일정한 거리를 날아가는데 걸리는 시간을 측정하여 질량을 결정하는 방법이다(그림 2-19). SELDI-TOF MS는 생체 시료를 protein chip 상에서 특별한 레이블 단계가 필요 없이 직접 분리, 검출, 분석이 가능한 장점이 있다. SELDI의 검출 범위는 1-250 KDa, 검출 한계는 1 femtomole이며, 10분 이내 결과를 얻을 수 있다.

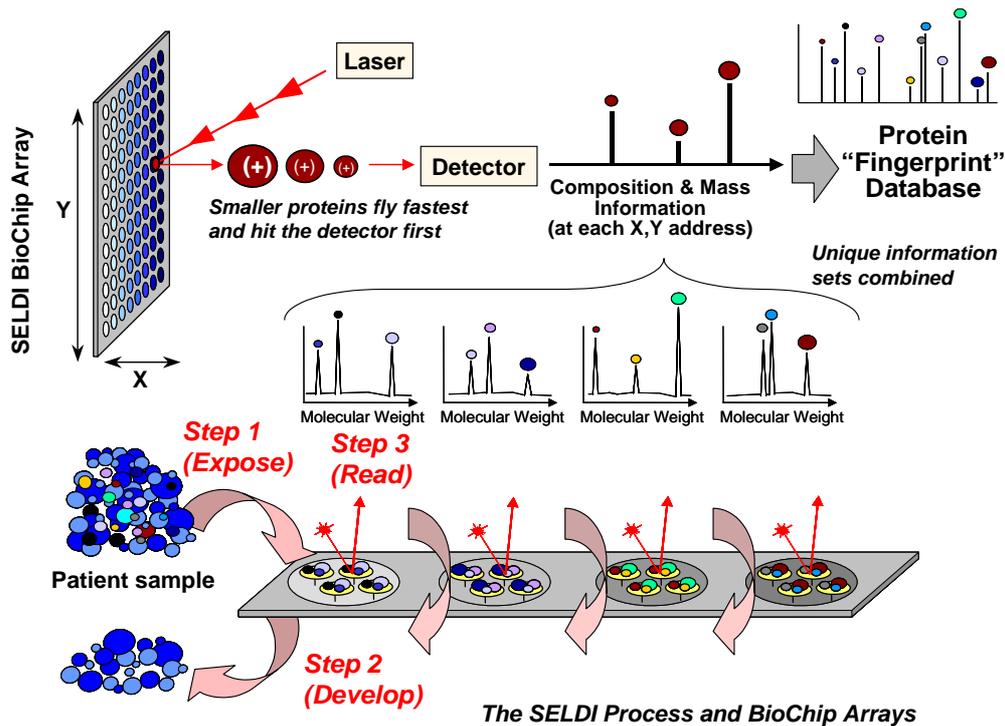


그림 2-19 SELDI-TOF MS 방식에 의한 단백질칩 측정법

(2) Surface Plasmon Resonance (SPR)

방사성 물질이나 형광물질을 이용한 표식 없이도 단백질 등 생체물질의 결합 친화도를 높은 민감도로 측정할 수 있는 기술로 사용될 수 있는 유용한 방법 중 하나는 생체분자의 상호작용 특히 분자인식을 검출하는 방법으로서 우수한 감도를 인정받고 있는 SPR (surface plasmon

resonance)이다. SPR은 광이 두 매질의 경계면에서 전반사 될 때 계면에 있는 금속층 전자들에 의한 표면플라즈몬의 진동이 계면근처의 유전상수에 의해 영향을 받아 유전층의 두께나 굴절률변화에 민감하게 반응하는 현상이다. 이때 계면에 위치한 분자들의 상호작용의 결과로 주어지는 유전상수의 변화와 관련된 공명각 변화를 통해 분자인식 유무를 정밀하게 검출할 수 있다. 이 방법은 별도의 형광 표식과정처리가 없이도 광학적 원리만으로 분자들간의 상호작용 계측이 가능하다는 장점을 가지고 있다 (그림 2-20).

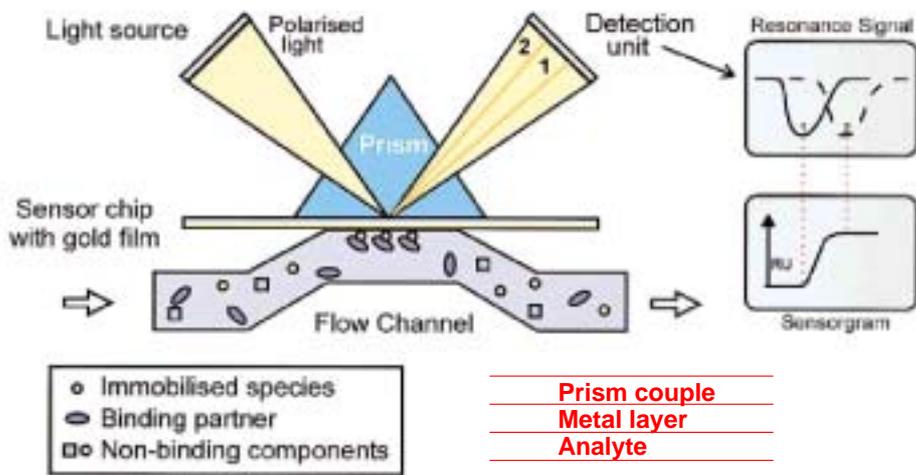


그림 2-20 SPR의 측정 원리

90년대 초 스웨덴의 Biacore AB사에서 개발된 BIAcore 시스템은 SPR의 원리를 이용하여 금(gold) 전극상에 수식된 생체물질과 다른 생체물질간의 상호작용을 실시간으로 측정할 수 있다. 예로서, 금 박막 위에 항체를 고정화시켜놓고, 시료용액 중에 항원과 결합을 유도하면서 광을 조사하면 그때 발생하는 표면 플라즈몬 공명에 의한 파장이동과 표면에 결합된 항원의 양이 비례하므로 결과적으로 결합된 항원의 농도 측정을 할 수 있고, 실시간으로 결합반응도를 모니터링할 수 있어 분자

반응에 대한 kinetics 연구도 가능하다. BIAcore 시스템은 소모품인 바이오센서와 SPR 측정시스템으로 구성되어 있다.

최근 생명과학분야에서 주목받는 proteomics 연구 즉, 단백질의 기능을 분석하는 데 이러한 SPR 시스템은 매우 유용하다. 1 ng/mm^2 의 질량변화까지 검출할 수 있어 $\text{pM}(10^{-12}\text{M})$ 수준까지 측정 가능한데 분자량으로는 180 Da의 저분자에서부터 세포수준 까지 측정할 수 있다. 신약개발에 필수적인 저분자의 검색과 새로운 단백질 발견, 면역센서에 사용되는 분석방법 개발, 세포내 물질들간의 조절기작 연구 등 다양한 생화학적 연구를 수행할 수 있다. 가장 큰 장점은 기존의 분석법이 형광물질이나 방사선물질의 표식이 필요한 반면 이 방법은 이러한 과정을 생략할 수 있어 label-free 면역분석이 가능하다는 데 있다.

이런 장점 때문에 최근에는 다수의 단백질이 어레이화된 단백질칩 상에서도 SPR image 신호를 검출하려는 시도가 이루어지고 있다. 특히 최근 연구결과에 의하면 SPR을 이용해 2차원 신호처리가 가능하며, 이런 기술을 이용해 DNA 칩, 단백질칩과 같은 2차원 평면의 빠르고 정확한 신호처리가 가능한 것은 물론이고, SPR을 이용한 현미경의 구현도 가능하게 될 것으로 보여진다. 이외에도 grating이나 평판 waveguide를 이용하여 프리즘과 같은 접촉광학계의 도움 없이도 SPR 현상을 유도할 수 있다.

다. 단백질칩의 응용분야

1) Proteomics 연구분야

Proteomics라 함은 단백질의 기능을 연구하는 분야로 기존의 단백질 연구와 목적상으로 볼 때 크게 다르지 않다. 다만 세포 또는 조직 등을 구성하는 proteome을 대상으로 해서 대량으로 그리고 단백질의 상대적인 양을 훼손하지 않고 분석을 한다는 점에서, 기존의 몇몇 개별적인

단백질을 대상으로 수행하던 방식과 차이를 가진다고 할 수 있다. 단일 단백질 또는 단백질 복합체의 동정 및 정량분석, 생물학적 외란에 의한 단백질의 발현양상 변화, 단백질 기능 및 상호작용 특성 규명, 그리고 단백질과 질병간의 연결고리 규명 등에 관한 것을 주요 연구영역으로 하고 있다.

단백질칩을 이용하여 단백질의 기능과 역할을 추정하는 방법으로는 이미 기능이 알려진 수 백 종의 서로 다른 단백질을 tagging 혹은 fusion protein의 형태로 발현시켜 칩 표면에 microarray를 제작한 후, 분석하고자 하는 단백질의 library와 반응시켜서 특이적으로 상호 작용하는 단백질들을 일차적으로 선별한다. 이러한 분석결과를 바탕으로 기존에 알려진 유전정보를 활용하게 되면 단백질의 기능을 추정할 수 있게 된다.

단백질칩은 진단분석, 정량분석, 단백질 상호작용 분석, 질량분석 등 4가지의 특성에 응용의 기초를 두고 있다. 단백질은 그 특성상 또 다른 단백질과 상호작용을 통해 그 기능을 수행하는데 단백질칩은 단백질 상호작용을 분석하는데 가장 적합한 방법 중의 하나이다. Proteomics 관점에서 단백질칩의 활용은 세포내 단백질의 생리상태별 발현 차이와 세포내 상태별 특정단백질의 정량적 차이 및 변형상태, 그리고 상호관계 등을 규정하는데 유용하다. 또한, 각종 질환 마커와 치료표적 단백질의 발굴, 동식물 성장조절 단백질의 규명, 생식기전 및 약물독성과 신의약 개발을 들 수 있다. 최근 직장암, 방광암, 치매 등의 biomarker나 질병 진행과정 연구에 단백질칩이 이용될 수 있는 가능성이 제시된 바 있다. 또한, 단백질칩에 항체나 단백질을 부착시킨 후 조직이나 세포에서 분리한 단백질 추출물에서 원하는 단백질을 순수 분리할 때도 사용 가능하다. 순수한 단백질이 칩에 결합한 경우 trypsin 등을 이용한 "On-chip digestion" 방법으로 단백질을 가수분해한 후 peptide mapping을 할 수도 있다. 이밖에 단백질칩은 peptide mapping, epitope mapping

뿐만 아니라 단백질 기능의 조절과정에서 발생하는 인산화 (phosphorylation), 당쇄화(glycosylation) 등도 분석할 수 있다.

최근 Yale대학 연구팀은 yeast proteome 5,800 spot을 이용한 "proteome chip"으로서 수많은 새로운 단백질을 발굴하는 데 성공하였다. Yeast proteome을 만들기 위해 연구진들은 yeast genome으로부터 얻어진 5,800개의 ORF(open reading frame)을 가지고 cloning된 단백질을 GST-HisX6 분자와 융합하여 니켈이 처리된 슬라이드 표면에 붙일 수 있었다. Protein array를 사용한 실험에서 그들은 이미 알려진 반응을 확인하였을 뿐 아니라 그동안 확인 안되었던 단백질의 post-translational modification 과정을 밝혔다. 또한, 지질-단백질 반응실험에 의해 그들은 52개의 새로운 지질결합 단백질과 45개의 생체막 관련 지질결합 단백질을 동정했다고 보고하였다. 이러한 연구는 인체나 다른 진핵생물의 proteome 분석에도 적용할 수 있는 것으로 평가되고 있다.

2) 진단 및 바이오센서 분야

단백질칩은 암, AIDS, 그리고 인체질병의 조기 진단이나 질병의 원인 규명에 효율적으로 활용될 전망이다. 이 경우 질병의 특이 단백질 (biomarker)의 존재 여부를 분석하여 질병을 조기에 진단하게 된다. 인체 내에 존재하는 대부분 질병 특이 단백질의 농도는 매우 낮기 때문에 분석의 민감도를 극대화하기 위한 고도의 기술이 요구된다. 최근의 연구보고에 의하면 전립선암의 경우 암의 진행 정도에 따라 특이 단백질의 종류가 다른 것으로 밝혀졌으며, 이 경우 10 여종의 서로 다른 특이 단백질이 확인되었다. 따라서, 암의 발병 및 진행정도를 조기에 진단하려면 여러 종류의 특이 단백질과 반응하는 생체분자를 칩 표면에 microarray 형태로 제작한 후 분석하여야 한다. 단백질칩을 이용하면 한 사람의 혈액으로 여러 질환에 대하여 동시에 진단할 수 있고, 역으로 한 가지 바이러스성 질환에 대하여 수십 수 천명의 혈액을 동

시에 빠른 속도로 자동 진단하는 것이 가능하다.

단백질칩은 임상 진단 분야이외의 식품 및 환경 monitoring 분야에도 그 시장성이 크다. 현대사회는 급속한 산업발달로 인하여 1만여 종 이상의 합성화학물질이 환경 중에 노출되어 있으며 이들 중 대부분은 생태계 및 인체에 악영향을 미치는 유해화학물질들이 포함되어 있어서 이들 유해물질의 독성 및 dose reponse 평가가 절실히 요구되고 있는 실정이다. 특정 세균의 세포벽이나 toxin과 반응하는 생체물질이 microarray된 단백질칩은 특정 병원성 세균이나 toxin의 감염 여부를 신속하게 분석하여 식품의 안정성 여부를 파악하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

단백질칩을 위와 같이 진단 및 환경/식품 모니터링용 센서 등으로 활용하기 위해서는 휴대하기 쉽고, 현장에서 시료를 분석할 수 있는 바이오센서(biosensor) 형태가 바람직하다. DNA 칩 및 단백질칩 등이 진단 목적으로 활용될 때 어레이 형태의 구조로 다수의 물질을 분석할 수 있는 바이오센서로 설명되는데, 이같은 바이오센서는 사용의 편의성이 중요하기 때문에 시료전처리의 문제가 센서의 보급 및 상용화에 제한이 되고 있는 실정이다. 예로서 항원 및 항체간의 면역반응을 이용하는 단백질칩에서는 반응에 참여하지 않은 물질을 제거해 주는 단계가 필요할 때가 많다. 반응 및 세척 등 일련의 분석단계는 단백질칩을 연구용으로 사용할 때는 문제가 안되지만, 일반인들이 사용할 수 있는 정도가 되기 위해서는 일련의 시료전처리 과정 등이 자동화되고 간편화 되는 것이 상품성이 높다. 그래서 대두된 것이 μ -TAS(total analysis system) 개념이며, 이를 칩 상에 구현하고자 하는 것이 실험실 칩, 바로 “Lab-on-a-chip” 개념이다. 현재의 바이오센서 기술은 실험실 칩을 구현하기 위해 플라스틱 MEMS 기술, μ -TAS 기술, 소량의 유체를 다루기 위한 microfluidics 기술 등이 접목되어 발전되면서 소형화, 집적화 되고 있다.

3) 고속 탐색 기술 분야

새로운 의약품이나 생리활성 물질의 성공적인 개발은 수많은 library 중에서 특정 생체분자와 특이적으로 작용하는 후보 물질을 대량으로 신속하게 탐색할 수 있는 HTS (high throughput screening) 시스템의 구축에 달려있다. 특정 단백질이나 리간드의 microarray를 제작하고 이와 특이적으로 반응하는 생체분자를 단백질이나 리간드의 library로부터 일차적으로 선별하게 되면 새로운 의약품이나 생리활성 물질의 개발을 위한 후보 물질을 효율적으로 도출할 수 있다.

많은 제약회사에서는 고밀도로 집적된 단백질칩을 신의약품 개발에 이용하고 있는 실정이다. 단백질칩이 실질적인 신약개발에 사용될 수 있는 분야는 단백질-단백질 상호작용 연구, 단백질-리간드 상호작용 연구 분야이다. 단백질-리간드 상호작용의 경우 단백질칩을 chemical library로 처리하여 특정 단백질에 특이적으로 결합하는 화합물을 스크리닝 함으로써 lead generation에 응용할 수 있다. 또한, 단백질-단백질 상호작용 연구의 경우는 특정 단백질을 칩 표면에 집적시킨 후 특이하게 결합하는 단백질을 발굴할 수 있으며 이를 이용해 세포 내에서의 상호작용 지도를 만들어 protein network를 구축할 수 있다. 이런 지도를 신약개발에 대한 target 선정에 응용할 수도 있고 단백질 상호작용을 방해하거나 증가시키는 화합물의 검색에도 응용할 수 있어 lead generation에도 이용할 수 있다. 한 예로서 위스콘신 대학의 Burgess 연구팀은 RNA 합성에 관여하는 시그마 factor s70과 sb의 결합을 방해하는 화합물을 HTS를 이용하여 발굴하여 이를 항생제로 이용할 수 있음을 보여 주었다. 이와 같은 단백질칩을 이용하면 고속, 대량으로 저렴한 가격에 검색할 수 있다는 장점이 있다.

라. 단백질칩 관련 선진 회사 현황

1) CIPHERGEN Biosystems

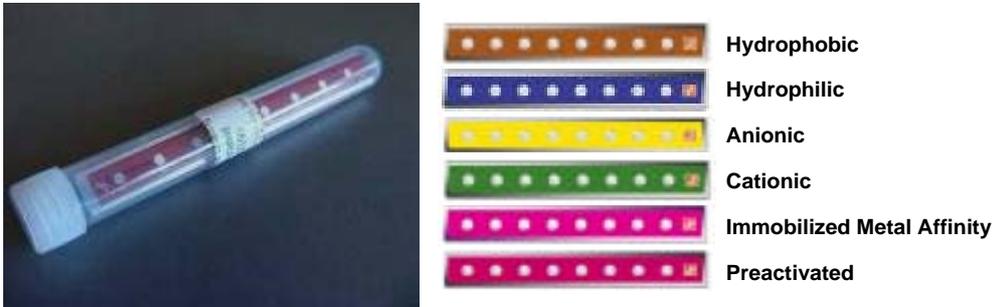


그림 2-21 CIPHERGEN사의 6가지 종류의 ProteinChip[®]

미국의 CIPHERGEN Biosystems사는 Molecular Analytical Systems사에서 기술이전 받은 SELDI-TOF MS 분석장치에 토대를 둔 단백질칩 system을 서비스하고 있으며, 여러 단백질을 한 기판에 고정화할 수 있는 protein array를 판매하고 있고(그림 2-21), 이미 국내의 BMS사를 통해 이 시스템을 공급하는 등 전 세계적으로 단백질칩 시장을 선도하고 있다. 특히 복잡한 샘플의 전처리과정 없이 시료를 그대로 단백질칩에 직접 넣고, 세척과정과 EAM(energy absorbing molecule) 첨가과정만을 거치면 바로 MS 분석이 가능해 실험시간을 크게 단축할 수 있다. 기존 2차원 전기영동법으로 2일 이상 소요되는 실험을 2-4시간으로 단축하고, 칩당 최대 8천개의 단백질을 분석, 확인할 수 있어 대량분석에도 용이하다. CIPHERGEN은 최근 자사의 protein array를 Applied Biosystems (ABI)사의 ABI's QSTAR Pulsar mass spectrometer에 사용할 수 있는 interface 기술을 제공하고 이를 공동으로 판매하기로 하였다. 단백질 동정 시에는 Tandem MS가 더 효율적이라는 이유도 작용한 것으로 보인다.

2) Zyomyx

Zyomyx 사는 1cm^2 의 면적에 10,000개의 각기 다른 단백질을 capture agent을 사용하여 고정화시킬 수 있는 단백질칩 prototype을 개발하였으며(그림 2-22), 기타 단백질칩 개발에 이용될 원천기술을 개발 중에 있다. 단백질칩 제조에 필요한 항체는 Cambridge Antibody Technology, Dyax, BD Biosciences 등과 연계하여 관련 기술을 공유하고 있으며, 단백질칩 용 스캐너는 Axon Instrument와 공동으로 개발하는 등 여러 기업과 전략적 제휴 관계를 유지하면서 단백질칩 관련 시장에서 최근 두각을 보이고 있다.

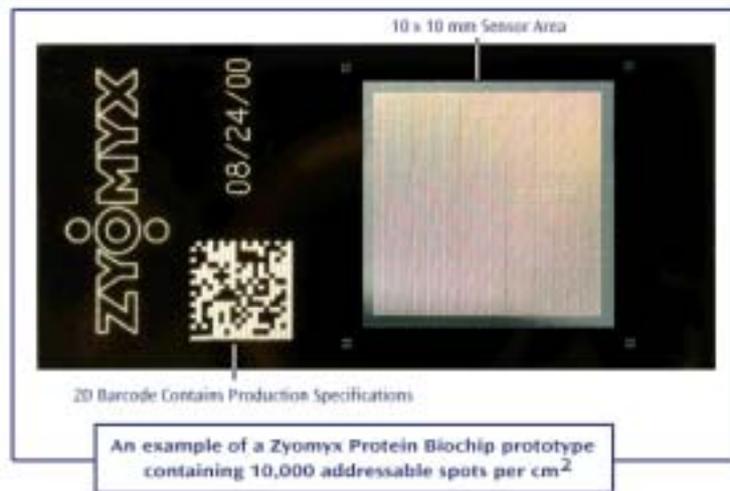


그림 2-22 Zyomyx사 단백질칩의 prototype

3) Phyllos

Phyllos 사는 protein-encoding RNA library 즉, target 단백질에 대한 binding site로 작용할 수 있는 nucleic-acid-polypeptide 분자의 library를 개발하는 방법으로 미국특허를 획득하였다(US 6,214,553, 6,258,558).

또한, 자사의 PROfusion 기술(그림 2-23)을 이용한 실험에서 세포자살 (apoptosis)에 관련된 특이 단백질 40여종을 분리하는 데 성공하였다고 발표하였다.

PROfusion™ Technology

in vitro covalent linkage of a protein (phenotype) to its encoding messenger RNA (genotype)

- A) Puromycin is covalently attached to the 3' end of mRNA using a synthetic linker. During *in vitro* translation, a ribosome moves along the mRNA to generate a nascent protein.
- (B) The C-terminus of the nascent protein covalently links to the puromycin, and the fusion is purified from the lysate containing the ribosomes. The protein is thus bound to its own mRNA, resulting in the PROfusion molecule.

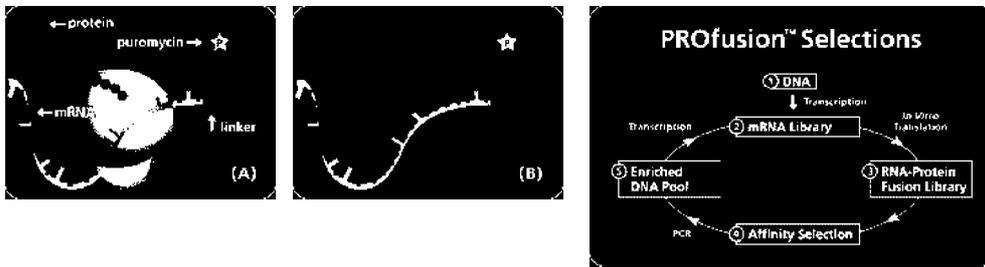


그림 2-23 Profusion 기술의 모식도

4) Biosite Diagnostics

2001년 4월 미국 San Diego에 있는 Biosite Diagnostics 사는 심근경색 모니터링용 POC (point-of-care) 개념의 microfluidic 단백질칩 시스템인 Triage[®] Cardiac을 개발하였다. 급성심근경색과 관련된 단백질인 Myoglobin, CK-MB, Troponin I 에 대해 특이적으로 결합하는 마커물질을 어레이화 하여 혈액시료로부터 이들 물질에 대한 분석을 15분내 동시에 수행할 수 있다. Microcapillary 구조를 갖는 다단계 반응 부위를 센서부위에 형성시켜 혈액시료가 자동으로 전처리 된 후, 어레이화된 마커 물질과 자동적으로 반응되도록 설계되었다. 단백질의 검

출은 670nm 레이저 다이오드 파장으로 여기 시킨 형광물질이 FRET (fluorescence resonance energy transfer)되는 것을 760nm 실리콘 포토다이오드를 이용하여 측정한다. Biosite Diagnostics사는 이미 심장병과 간 독성 측정을 위한 단백질칩을 개발하기 위해 Large Scale Biology사와 기술제휴를 한 바 있다.

5) Zeptosens

스위스 회사인 Zeptosens는 planar waveguide 기술을 이용하여 high throughput의 micro ELISA Arrays를 구현하였다. 이 기술은 굴절률이 작은 유리나 투명한 고분자기판 위에 굴절률이 큰물질(Ta_2O_5 또는 TiO_2)로 wave guide층(150-200 nm)을 형성시키고 입사광이 칩 표면에 도달할 때 grating 구조에 의해 표면에만 도달하도록 하여 결과적으로 칩 표면에서의 반응만을 모니터링할 수 있도록 되어 있다.

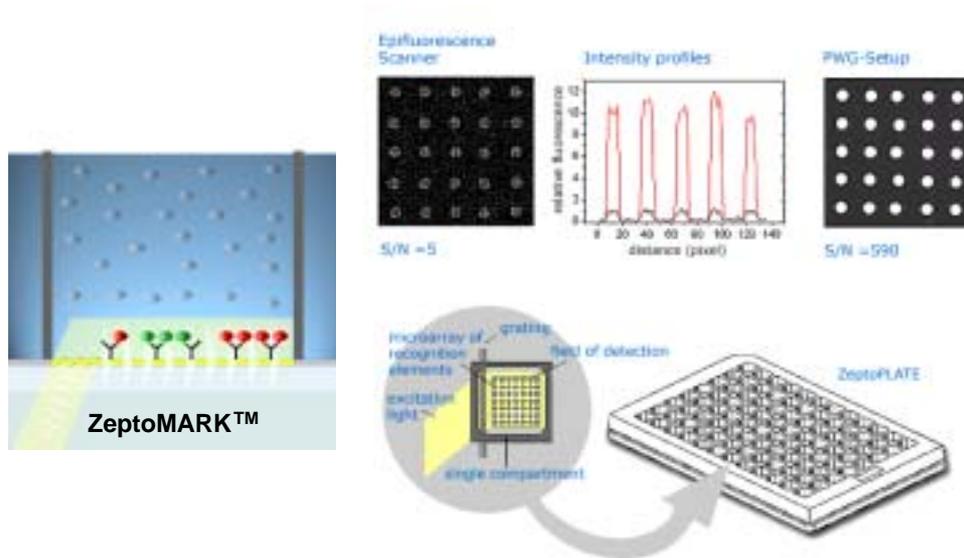


그림 2-24 ZeptoMARK™ 기술 및 측정결과의 비교

ZeptoMARK™라는 protein array 기술은 개개의 well안에 350 종의 단백질을 어레이시킬 수 있고, 96 well plate 형태로도 사용할 수 있게 모듈 형태로 되어있는데, 그림 2-24에서와 같이 background 신호를 줄이고, S/N (signal to noise) 비율도 100배 이상 향상시켜 감도를 크게 높일 수 있는 기술로 평가되고 있다.

6) Luminex

Luminex 사는 suspension array개념을 도입한 LabMAP(laboratory multiple analyte profiling) bead array 기술을 개발하고, 최근 Research & Diagnostics Systems사에 기술이전을 하여 세포배양 시료로부터 다수의 cytokines을 분석할 수 있는 Fluorokine Map multianalyte profiling kit를 상용화하였다. 이들의 기술은 DNA, 항체, 효소 등 수 천개의 표식분자를 붙일 수 있고, 형광인식이 가능한 polystyrene microsphere라는 비드(bead)를 사용한다. 즉, 두가지 레이저원을 이용하면 특별히 2차원적으로 어레이시키지 않고서도 비드 표면에 붙어 있는 단백질에 의한 반응 정도와 비드 자체를 구별할 수 있다. 단순히 test tube 상에 이들 비드와 시료를 섞기만 하면 되는 장점이 있다.

7) HTS Biosystems

SPR Array chip은 현재 많은 회사에서 관심을 갖고 관련기술을 개발 중이다. BIAcore도 최근 Millenium Pharmaceuticals과 공동으로 SPRAC (SPR Array chip)를 개발하고 있는 데, HTS Biosystems사는 grating-coupled SPR의 원리를 이용하여 microarray 형태의 칩상에서 단백질 결합반응을 모니터링 하는 기술과 SPR 측정장치인 FLEX CHIP™ 기기를 개발하였다. 이 방식은 prism을 사용한 BIAcore 기기와 달리 금으로 처리된 플라스틱 기판에 grating 구조를 갖게 한 후,

단백질 반응에 의한 SPR angle 변화를 유발시키게 되어 있다. 장착된 CCD 카메라를 이용하여 microarray상의 각 spot에 대한 반사광의 강도를 측정하여 SPR 영상도 얻을 수 있다(그림 2-25).

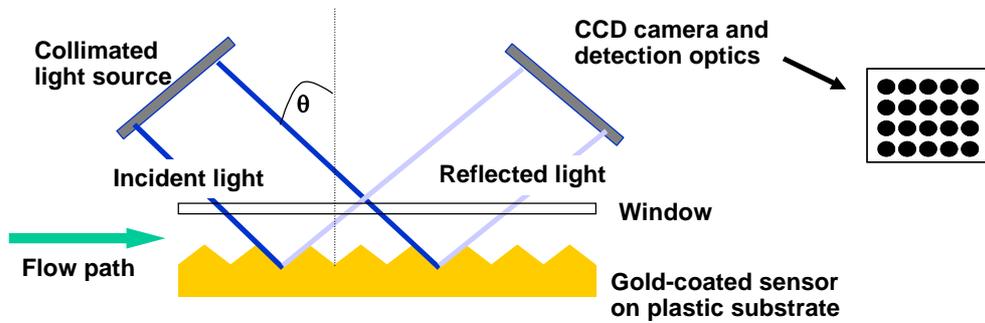


그림 2-25 FLEX CHIP™ 시스템의 SPR 측정원리

8) Combimatrix

Combimatrix 사는 biological array processor라 불리는 Combimatrix™ biochip을 개발하고, 스위스 회사인 Roche Diagnostics사와 제휴관계를 맺었다. 반도체기술에 기반한 이 칩은 3차원의 다공성물질로 표면이 처리된 반도체로 이루어져 있으며, 각 spot well을 이용하여 DNA, peptide등을 합성할 수 있고 고정화시킬 수 있다. “Virtual flasks”라는 개념으로 수천 가지의 화학물질을 반도체 웨이퍼 표면상에서 직접, 상호 간섭 없이 다룰 수 있는 기술로 평가되고 있고, 최근 NASA에 기술이전 되어 우주공간에서의 실험에도 사용될 예정이다.

9) Gyros

최근 스웨덴의 Gyros사는 단백질 결합용 affibody의 library를 개발하고 있는 스웨덴의 Affibody사와 전략적 제휴관계를 맺고, CD (compact

disk) 형태의 microfluidic-based protein microarray를 공동개발하기로 하였다. Gyros사의 microfluidic CD platform 기술은 시료전처리에서부터 단백질 발현분석에 이르는 일련의 분석과정을 플라스틱 재질의 CD 한 장으로 수행할 수 있다는 장점이 있다. 다수의 시료를 동시에 처리할 수 있고, 다단계에 이르는 일련의 분석과정을 CD가 회전시에 생기는 구심력에 의해 nanoliter scale로 수행이 가능하다.

MALDI-TOF MS를 이용한 peptide mapping은 단백질 동정을 위해 많이 사용되지만, 다수의 시료를 분석하기 전에 반드시 전처리 과정을 거쳐야 한다. CD lab을 이용하면 CD 상에 구현된 컬럼에 의해 96개의 단백질 digest를 동시에 농축시키고, 탈염시킨 후 MALDI matrix와 함께 CD상의 MALDI target 영역까지 자동으로 이동된다. 그림 2-26에서

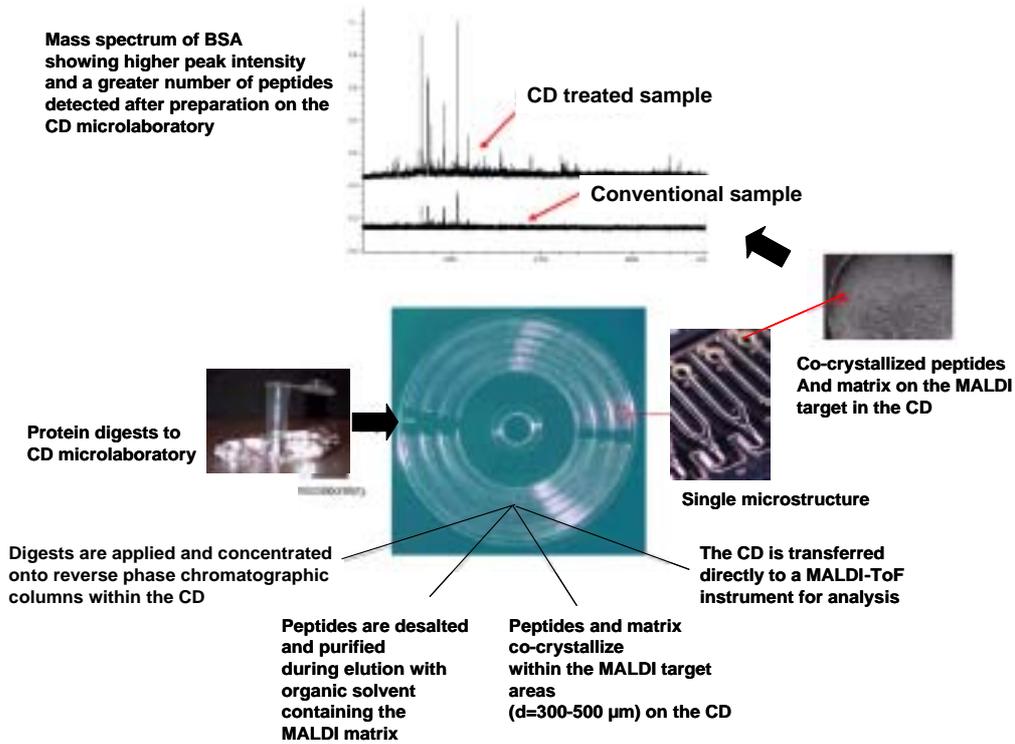


그림 2-26 CD Laboratory를 이용한 단백질 시료의 전처리과정 및 MALDI-TOF MS 분석에

와 같이 BSA (bovine serum albumin)을 이용한 tryptic digest에서 attomole 까지의 감도를 얻었다고 보고한 바 있다.

10) Quantum Dot

나노테크놀로지를 바이오칩 분야에 이용하는 회사중의 하나인 Quantum Dot사는 크기와 물질에 따라 광학적 성질이 변하는 nanocrystal을 이용한 laboratory-on-a-bead (QbeadsTM) 기술을 개발하였다. Cadmium selenide와 같은 수용성의 형광을 발하는 semiconductor crystal을 이용하면 다양한 색의 변화를 측정함으로써 다성분 분석이 가능하여 array 구조의 칩을 분석하는 데 유용하게 쓰일 수 있다. 이들 물질은 레이저가 없이도 쉽게 여기(excitation)될 수 있어 측정장치가 간단해지는 장점이 있고, 고감도의 분석능을 보여주어 널리 활용될 전망이다.

11) Agilent Technologies

미국의 Agilent Technologies사는 자사의 분석기기 및 소프트웨어 제작기술과 미국 Caliper Technologies사의 마이크로 칩 제작기술을 합쳐 단백질의 크기와 농도를 한번에 자동으로 분석할 수 있는 Protein 200 Labchip kit를 개발하여 시판하고 있다. 이 kit는 25개의 단백질 어레이로 구성되어 있으며 이를 이용하여 단백질의 순도 및 품질 분석, 항체 생산과정 모니터, 단백질의 발현 분석, 세포 분해에서 단백질 정제 과정을 모니터링할 수 있으며, 30분안에 10개 단백질 샘플을 분석할 수 있다.

마. 국내외 산업 현황분석

최근 국내 생명공학기술에 대한 인식의 전환과 기초생명과학의 성장

에 힘입어, 기업, 국가출연연구소, 대학연구실 등을 중심으로 단백질칩 및 관련 시제품 개발에 대한 노력이 활발히 전개되고 있다. 또한, 2001년 8월 결성된 단백질칩 연구회는 국내 연구 정보교류 및 관련 인프라 구축의 활성화에 기여할 것으로 보인다. 이미 표 2-4에서 볼 수 있는 바와 같이 10여 개의 업체가 단백질칩 관련 연구결과물을 바탕으로 벤처기업을 설립하고 활동중이다. 아직은 단백질칩 관련 platform 기술을 확립하고 사업을 본격적으로 시작하고 있는 기업은 없지만, 사회 전반적으로 단백질칩에 대한 관심이 고조되고 있고 몇몇 기업은 단백질칩에 대한 요소기술을 중심으로 특성화할 수 있는 영역에 집중 투자하고 있어 조만간 가시적 성과가 기대되고 있다. 한가지 특이한 사실은 국내 산업의 특성상 단백질칩 관련 벤처기업은 외국과 달리 두 가지 이상의 사업모델을 갖고 있다는 점이다. 반면, 국외의 경우는 표 2-5에서와 같이 기업마다 한가지 이상의 특화된 기술을 이미 확립하고 있고, proteomics 및 진단용 단백질칩과 시스템 개발을 진행하면서 연구 용역 서비스도 병행하고 있다는 것이 특징이다. 단백질칩 분야는 최근 관련 기업 간의 기술제휴 및 기술이전, 판매가 급속히 이루어지고 있기 때문에 국내 기업들은 보다 총체적인 정보분석과 적극적 대응이 요구된다고 하겠다(www.BiochipNet.com, www.Lab-on-a-chip.com, www.BioArrayNews.com).

표 2-4. 단백질칩관련 국내 업체의 동향 (1/2)

업체명	Homepage	사업분야	연구성과 및 연구현황	판매제품
(주)다이아칩	www.diachip.co.kr	단백질칩, 진단시약, 자동진단시스템	감염성질환 동시진단 단백질칩 진단시약 및 자동화 장비 개발	PCAS2003
(주)파이크	www.pike.co.kr	프로테오믹스 제품 판매 및 포스트 지놈 관련 정보	방암, 대장암, 피부암세포만을 인식할 수 있는 새로운 단백질 (Philyra Pisum Agglutinin) 발굴	각종 효소판매, 펩티드 정제 및 분석
(주)제네티카	www.paxgenetica.com	질병 진단기술 개발, 진단용 항체 제작	단백질의 활성보존율을 기존 방법보다 4배 이상 높인 단백질칩 개발	-
(주)디스진	www.bmskorea.co.kr	단백질칩을 이용한 질병 진단	화학적 수식을 이용한 단백질칩 제조방법 연구	-
(주)바이오씨에스	www.biocs.com	Microarray/functional genomics, 기능성물질 탐색	단백질 및 유전자 기능 검색용 케미컬칩 개발	-
(주)프로테오젠	www.proteogen.co.kr	단백질칩, 마이크로어레이어	단백질 고정을 위한 슬라이드 코팅 물질 판매 단백질칩 분석장비 개발 중	CM-1000 ProLinker, ProteoChip,
(주)에스디	www.standardia.com	단백질칩 및 진단키트	에이즈, 매독, 간염 등 40여종의 질병진단 키트 및 14종류의 질병 동시진단용 단백질칩 개발	Hepatitis B virus HIV-1 kit 등
(주)코스타월드	www.kostarworld.co.kr	단백질 probe 발굴 및 단백질칩	당뇨, 갑상선 진단용 Probe 발굴 슬라이드글래스 표면처리	-
(주)엠아이텍	www.mitech.co.kr	진단 마커 및 치료용 표적단백질 탐색	질병진단용 표적단백질 탐색 조직재생 촉진 단백질 탐색	-

표 2-4. 단백질칩관련 국내 업체의 동향 (2/2)

업체명	Homepage	사업분야	연구성과 및 연구현황	판매제품
(주)휴마시스	www.humasis.com	Multi-immunosensor	Rapis test strip (임신, 배란, B형간염, C형간염)	정상임신 및 자궁외 임신 동시진단 kit
(주)유진 사이언스	www.eugene21.com	단백질칩 제작 및 식품용 probe 개발	식품산업용 단백질칩 개발중	-
(주)바디텍	www.boditech.co.kr	진단시약, 항체제조 서비스	전립선암 진단 kit, 단백질칩 베이스 개발	PSA ELISA kit Immuno Chip
(주)LG CI	www.lgci.co.kr	신약개발 및 진단시약	진단시약 상품화 및 단백질칩을 이용한 신의약품 개발 중	HCD, HBV, 말라리아 진단시약
LG전자(주) LG 전자기술원	www.lg-elite.com/aboutus/bio.html	Bioelectronics 분야	바이오칩 용 센서 및 검출기술 개발 중	-
(주)아이 바이오팜	www.ibiopharm.co.kr	약물 검색을 위한 High-throughput screening 서비스	펩티드, 단백질계 생리활성 물질의 흡수, 대사, 세포 독성에 대한 검색시스템 구축	-
(주)푸드 바이오텍	www.foodbiotech.co.kr	식품 알레르기 (60항목) 검사 서비스	식품 알레르기 진단용 단백질칩 개발	-
(주)삼성전자 종합기술원	www.sait.samsung.co.kr/newsait/res/5.htm	단백질 검출용 Lab-on-a-chip	MEMS 기술을 이용한 단백질검출 및 시료전처리 시스템 개발 중	-
(주)디지털 바이오 테크놀러지	www.digital-bio.com	의료용진단/분석기기 및 관련 solution개발	Microfluidics를 이용한 소형, 휴대형 체외진단기기 개발 중	Genoscope DCR200, Dilution chip
(주)바이오 인프라	-	Protein target 발굴, 항체 kit개발	암 target 발굴 중, 단백질 정제 및 분석 등의 기반확보	-

표 2-5. 단백질칩관련 국외 업체의 동향 (1/3)

업체명	Homepage	사업분야	연구성과 및 연구현황	판매제품
Ciphergen	www.ciphergen.com	단백질칩 system	SELDI-TOF-MS technology ProteinChip [®] arrays 판매중	ProteinChip [™] Systems
Zyomyx	www.zyomyx.com	Proteomics biochip	Protein biochip prototype (10,000 spots/cm ²) Multi-Cell chip	-
Cambridge Antibody Technology	www.cambridgeantibody.com	Antibody-based therapeutic products	Antibody-based drug discovery and development	Human monoclonal antibodies
Phylos	www.phylos.com	Integrated drug discovery program	PROfusion [™] technology를 이용한 100조의 단백질 library 구축	TRINECTIN [™] Proteome Chip
SomaLogic	www.somallogic.com	Proteomics services	DNA capture protein Aptamer array technology	-
Oxford GlycoSciences	www.ogs.com	Proteomics services	High throughput proteomics & Drug discovery platform	-
Biosite Diagnostics	www.biosite.com	POC diagnostics	Omniclonal [™] Ab technology Microfluidic protein chip	Triage [™] cardiac, BNP system
Large Scale Biology	www.lsb.com	Protein markers Protein Biochips	Human protein index ProGEX [™] technology for disease-specific markers	ProGEX [™]

표 2-5. 단백질칩관련 국외 업체의 동향 (2/3)

업체명	Homepage	사업분야	연구성과 및 연구현황	판매제품
BIAcore	www.biacore.com	SPR array chip & system	SPR array chip (SPRAC) 1089 spots 분석	Biacore 3000
LumiCyte	www.lumicyte.com	Biochip-based proteomics	SELDI process, Seldiography™	-
Zeptosens	www.zeptosens.com	Nanotechnology - based microarrays & readout system	Planar waveguide 방식의 검출기술, Zepto™ Technology	ZeptoMARK
Luminex	www.luminexcorp.com	Suspension arrays, Instruments	LabMAP (laboratory multiple analyte profiling) Polystyrene microsphere 기술	Luminex ¹⁰⁰ Luminex HTS™
Jerini AG	www.jerini.de	Protein microarray	High-density protein, peptide and small molecule arrays	Protein microarray
Prolinx	www.prolinxinc.com	Surface chemistry, optical biosensor	Protein microarray 용 PBA-SHA complex chemistry 구축	Versalinx ^{1M} chemical affinity tools
GPC-Biotech	www.gpc-biotech.com	Drug discovery and development	Proteomics Technologies	-
Genometrix	www.genometrix.com	High-throughput protein arrays	VistaArray 96-microarray platform 구축 (45일 소요)	VistaPro

표 2-5. 단백질 칩 관련 국외 업체의 동향 (3/3)

업체명	Homepage	사업분야	연구성과 및 연구현황	판매제품
HTS Biosystems	www.htsbiosystems.com	SPR instruments & microarray	Grating-coupled SPR을 이용한 Microarray	FLEX chip TM
Combimatrix	www.combimatrix.com	Semiconductor-based high-throughput tools	1000 test sites를 갖는 peptide, small molecule 합성이 가능한 virtual flasks 기술	Array processor
Molecular Staging	www.molecularstaging.com	Clinical diagnostic and genomics tools	Rolling Circle Amplification Technology (RCAT TM)	RCAT TM Immuno-diagnostics & Biochips
Molecular Probes	www.probes.com	Fluorescent reagents and techniques	Quantitative Proteomics studies of cancerous cells/tissues	Fluorescence probes
Gyros AB	www.gyrosmicro.com	Proteomics	Microfluidics-based protein array on CD format	-
Affibody AB	www.affibody.com	Proteomics and biotherapy	Selection technology from combinatorial protein libraries, protein stabilization	Affibody TM ligands
Quantum Dot	www.qdots.com	Semiconductor crystals	Laboratory-on-a-bead 기술 nanocrystals 활용 분석기술	Qdot TM nanocrystals
Glauco Proteomics B.V.	www.glaucopt.com	Proteomics	Antibody arrays	-

바. 향후 기술 개발 방향 및 전망

기존의 생명공학산업은 신약개발과 전통적 생물공학제품 생산 외에 새로운 부가가치를 창출할 수 있는 바이오칩 분야에 대한 새로운 시장이 열리고 있다. 생물분자들의 고밀도 집적에 의한 진단, 신약개발의 소요되는 비용절감과 throughput 등의 효율성 증대, 극소량의 시료로부터 다양한 분석을 효율적으로 수행할 수 있는 기능 등 단백질칩은 이미 세계적으로 가장 중요한 기술의 하나가 되어가고 있다.

단백질칩 기술은 21세기 바이오칩 시장에서 proteomics 연구, 생체진단 및 대량검색 분야에 있어 널리 활용되면서 급속히 발전될 전망이다. 단백질칩을 이용하여 단백질의 결합반응을 분석하는 데 사용되는 MALDI-TOF MS, SPR 등과 같은 분석방법이외에도 좀더 간편하고 값싼 새로운 측정기술 개발도 절실히 요구되고 있다. 기술의 특성상 DNA 칩과 다른 고정화방법과 분석방법을 이용하는데 아직까지 기술적으로 해결해야 하는 부분이 많다. 또한, 고순도와 높은 결합력을 갖는 재조합 항체, 핵산 aptamers, 저분자 리간드들을 대량으로 검색, 추출, 정제하는 기술이 요구된다.

상용화에 성공하기 위해서는 무엇보다 차별화 되고 독보적인 기술개발이 절실하다. 학문 분야간 벽을 허물고 공동으로 개발이 이루어져야 하는데 이는 단백질칩기술의 특성상 여러 요소기술의 개발뿐만 아니라 관련 분야의 기술 융합에 의한 새로운 시너지가 중요하기 때문이다.

(책임 집필자: 박제균)

2001 신기술동향조사 보고서 바이오칩

발 행 : 특허청

편 찬 : 특허청 유전공학과

전화 : 042)481-5598

팩스 : 042)472-3514

발행일 : 2001년 11월

인 쇄 : 영인정보시스템

전화 : 042)488-7481
