Light signaling protein 의 기능 및 바이오 부품으로의 활용

서울대학교 약학대학

이지연

단백질은 합성생물학에 있어 중요한 building block 중의 하나로서 단백질의 구조 변화, 상호작용, dynamic 등에 의해 생물학적 시스템을 조절하게 하는 multi-component 단백질을 분할 조립하는 기술은 시스템의 복잡함이나 단백질의 물리적 특성 등으로 인해 gene regulatory network에 비해 아직 많은 연구가 진척되지 않은 상태이다 (Grunberg and Serrano, 2010). 합성생물학에 있어 새로운 부품으로 사용될 수 있는 bio-part로서의 단백질을 찾아내고 그 특성을 새로운 device를 개발하는데 응용하는 과정은 단백질 부품 간의 모듈화 된 상호작용을 이해를 바탕으로 하며 궁극적으로는 단백질의 복잡함을 well-define 된 분할 조립 가능한 부품으로 만드는 것이 목적이라 할 수 있다.

자연에 존재하는 많은 미생물과 식물들의 성장이나 대사, 분화에 있어 대표적인 환경적인 요인 중의 하나가 빛이라고 할 수 있다. 빛은 식물 세포 내에서는 광합성을 통해 에너지를 포집하고, photoreceptor에 의해 신호전달에 관여하는 등의 중요한 기능을 가지는데 이러한 맥락에서 빛에 반응하는 단백질은 합성생물학에서 새로운 바이오 부품으로서 조명을 받고 있다. 빛에 의한 조절은 화합물 (ligand)에 의한 조절에 비해, 가역적이고 정량적이며 시간적 공간적으로 정확하게 조절할 수 있다는 장점과 더불어 세포 내에 손상을 적게 줄 수 있다는 특징을 가지고 있기에 지난 10여 년간 photosensory protein을 이용한 새로운 바이오 시스템의 조절에 대한 많은 연구가 발표되고 있다 (Nature 2013).

빛에 반응하는 단백질은 크게 phototropins, xanthopsins, BLUF protein (blue light sensors using flavin adenine dinucleotide, cryptochromes, phytochromes, rhodopsins 등으로 분류되고 있으며 빛에 반응하는 단백질 내에는 chromophore 라고 하는 화합물이 존재한다 (그림 1). 각각의 chromophore의 photochemistry 가 단백질 내에서의 신호전달에 직접적으로 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Yin and Wu, 2013). 그러나 빛에 의한 화학적 반응이 어떻게 생물학적 시그널로 증폭되어 시스템을 변형시키는 지에 대한 부분은 아직 명확하게 규명되어 있지 않은 상태이며 현재 많은 연구가 집중되고 있는 상태이다.

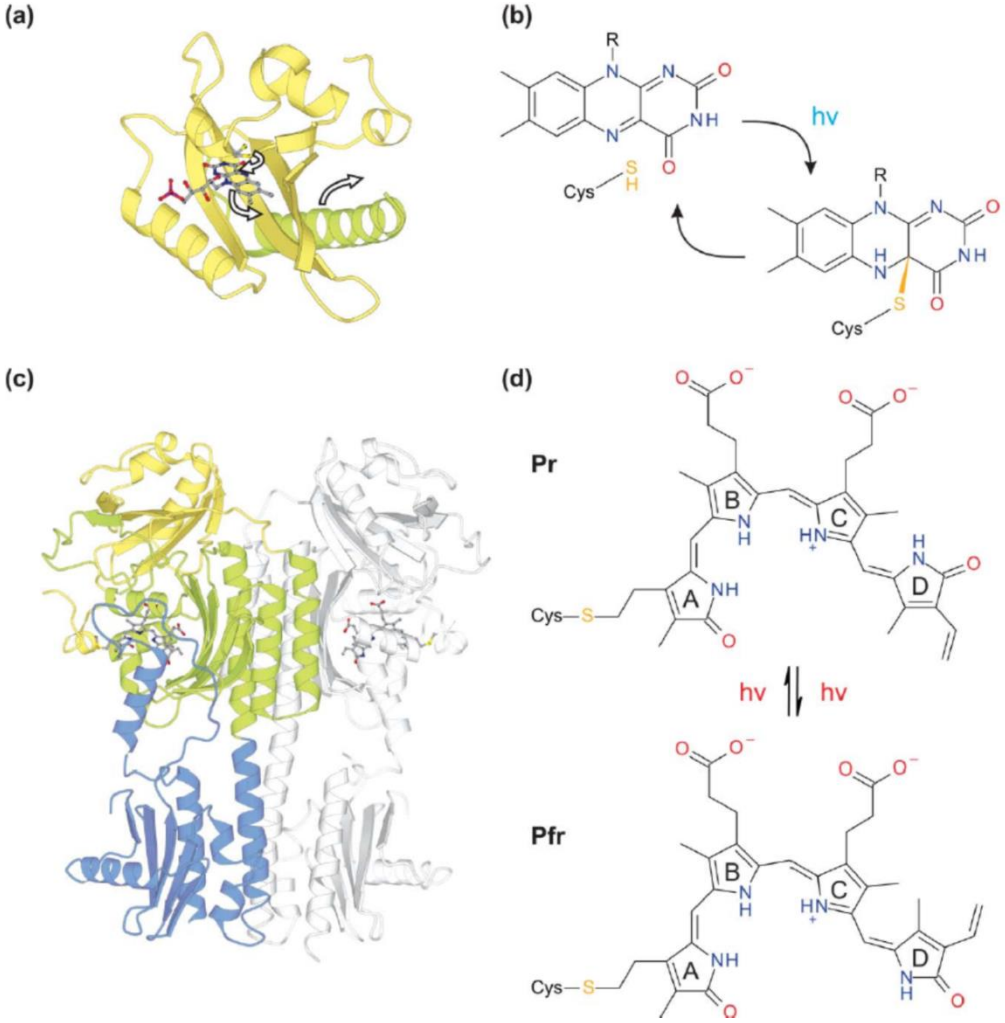

그림 1. Photosensor 단백질의 구조 (a, c)와 chromophore와 단백질 사이에 일어나는 photochemistry의 예 (Moglich and Moffat, 2010)

Photoreceptor 단백질들은 대부분 구조적으로 compact 하고 2차 구조에 의해 다른 활성을 가지는 histidine kinase, cyclic GMP-specific phosphodiesterase, sulfate transporter anti-sigma antagonist protein, helix-turn-helix 도메인 등에 연결되어 있는 것으로 알려져 있다 (그림 2). 이와 같이 독립된 module로서의 기능을 가짐과 동시에 다양한 effector 도메인에 연결 할 수 있다는 특징은 합성생물학에 있어서 mix-and-match 전략에 의해 새로운 기능을 가지는 빛에 의해 조절되는 artificial system을 만들기에 매우 적합한 부품이라고 할 수 있다. Bioinformatics 분석에 따르면 LOV 도메인과 같은 빛에 반응하는 단백질을 encoding 하는 박테리아 genome들의 수는 전체의 3.5-10 % 에 이르는 것으로 알려져 있다 (Herrou and Crosson, 2011).

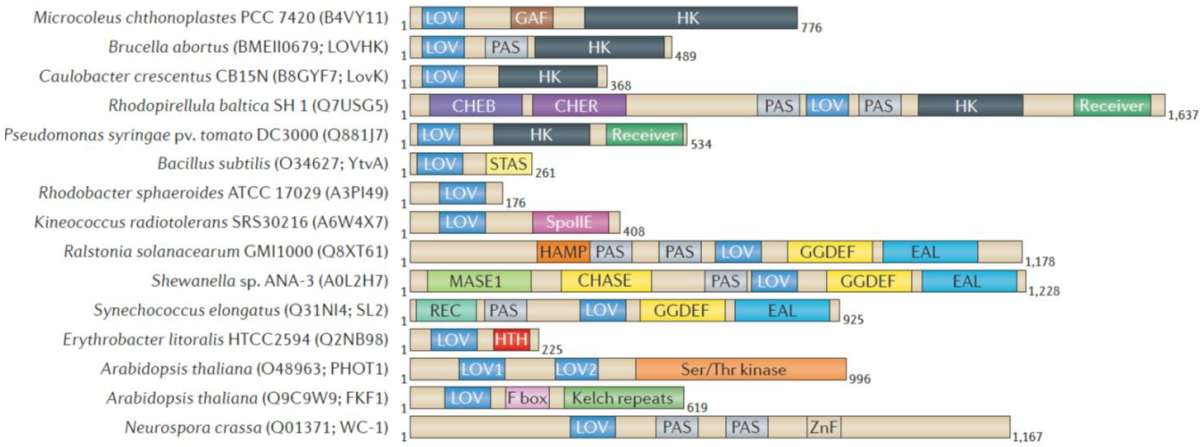

그림 2. 자연에 존재하는 LOV domain의 예와 이들에 연결되어있는 다양한 effector 도메인의 예 (Herrou and Crosson, 2011)

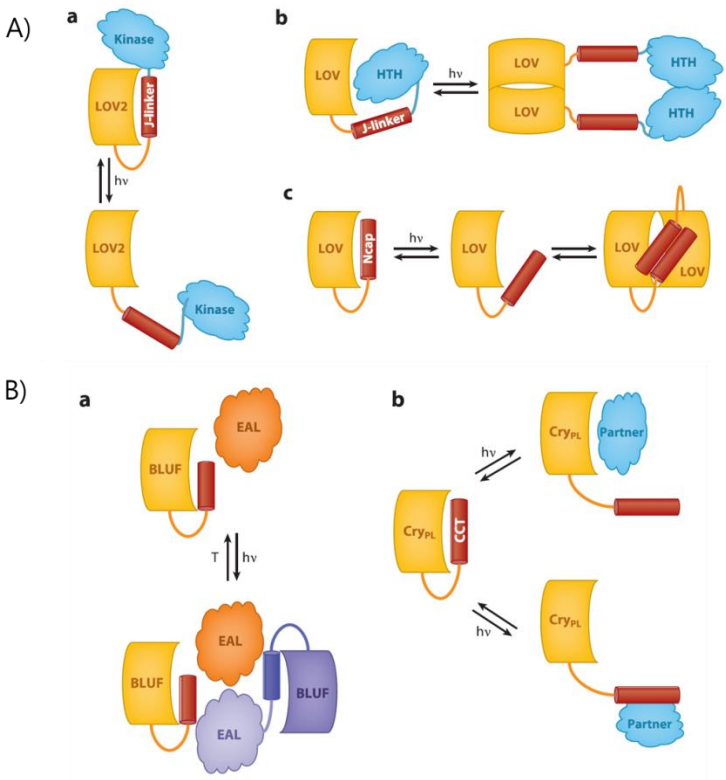

그림 3. 빛에 반응하는 단백질 모듈의 signal 전달 메커니즘의 예 (Losi and Gartner, 2012)

그동안 특정파장의 빛에 의해 활성화되는 Caged transactivator 나 화학적 inducers 에 의해 유전자의 기능을 조절하는 연구가 보고 된 바 있었으나 (Deiters, 2010) 빛에 반응하는 단백질 유전자를 도입하여 transgene의 기능을 조절하는 연구들이 갈수록 활발히 보고 되고 있는 추세이다. 최근에는 빛에 반응하는 단백질을 표적 세포에 엔지니어링 함으로써 활성을 조절하는 optogenetics

라는 분야를 원하는 타겟 유전자의 전사조절이나 유전체변형에 응용하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 특정 염기서열을 인식할 수 있도록 하는 zinc-finger나 transcription-activator-like effector (TALE) 단백질을 이용한 DNA-targeting 기술들을 빛에 반응하는 photoreceptor 단백질들과 접목시키거나, 염기서열 특이적인 DNA 절단효소를 이용하여 genome을 변형시키도록 하는데 응용하는 등 biotechnology 분야의 발달과 더불어 급격하게 발전하고 있다 (Konermann et al., 2013). 최근 보고된 기술들은 빛에 노출된 지 수 분 안에 세포 내에서 전사가 일어나고 빛의 강도에 의해 가역적으로 조절되며 배양된 세포 내에서뿐만 아니라 동물모델에 까지 활용되고 있는 추세이다. 또한 빛에 의해 hetero 혹은 homodimerization이 조절되는 모듈을 이용하여 세포내의 신호전달에 관여하는 분자나 pathway를 빛에 의해 다이나믹하게 조절하는 연구가 보고되고 있어 합성생물학에 적용 시킬 수 있는 분야는 매우 다양하다고 볼 수 있다 (Bugaj et al., 2013).

앞으로는 합성 생물학적 접근을 통해 센서의 조절을 더욱 효율적으로 다이나믹하게 빛에 의해 fine-tuning 할 수 있는 시스템을 확립하기 위한 연구가 필수적이며 genome editing 기술뿐만 아니라 다양한 바이오 부품의 조립기술에 적용될 것으로 보인다. 합성생물학에서의 Photoreceptor 단백질들의 성공적인 활용을 위해서는 이러한 단백질들의 신호전달 메커니즘에 대한 명확한 이해가 우선적으로 선행되어야 할 것 이며 빛을 이용해 product의 생산성 향상에 기여할 수 있는 다양한 신기술들이 개발 될 수 있을 것으로 기대되고 있다.

참고문헌)

Bugaj, L.J., Choksi, A.T., Mesuda, C.K., Kane, R.S., and Schaffer, D.V. (2013). Optogenetic protein clustering and signaling activation in mammalian cells. Nature methods *10*, 249-252.

Deiters, A. (2010). Principles and applications of the photochemical control of cellular processes. Chembiochem : a European journal of chemical biology *11*, 47-53.

Grunberg, R., and Serrano, L. (2010). Strategies for protein synthetic biology. Nucleic acids research *38*, 2663-2675.

Herrou, J., and Crosson, S. (2011). Function, structure and mechanism of bacterial photosensory LOV proteins. Nature reviews Microbiology *9*, 713-723.

Konermann, S., Brigham, M.D., Trevino, A.E., Hsu, P.D., Heidenreich, M., Cong, L., Platt, R.J., Scott, D.A., Church, G.M., and Zhang, F. (2013). Optical control of mammalian endogenous transcription and epigenetic states. Nature *500*, 472-476.

Losi, A., and Gartner, W. (2012). The evolution of flavin-binding photoreceptors: an ancient chromophore serving trendy blue-light sensors. Annual review of plant biology *63*, 49-72.

Moglich, A., and Moffat, K. (2010). Engineered photoreceptors as novel optogenetic tools. Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology *9*, 1286-1300.

Yin, T., and Wu, Y.I. (2013). Guiding lights: recent developments in optogenetic control of biochemical signals. Pflugers Archiv : European journal of physiology *465*, 397-408.