식품 위생 및 안전성 분야에서의 단백질체학의 활용

The Use of Proteomics in the Field of Food Hygiene and Safety

배정원, 권우성

Jeong-Won Bae, Woo-Sung Kwon*

경북대학교 축산BT학과

Department of Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University, Sangju, Gyeongsangbuk-do 37224, Republic of Korea

권 우 성

Correspondence to

Woo-Sung Kwon, Ph.D.,
Assistant Professor
Department of Animal Science and Biotechnology,
Kyungpook National University,
2559, Gyeongsang-daero,
Sangju-si, Gyeongsangbuk-do
37224 Republic of Korea
Tel: +82.54.530.1942
E-mail: wskwon@knu.ac.kr

1. 서론

1953년 이중나선 구조의 DNA가 유전정보 물질이라는 것이 세상에 알려졌으며, 이로부터 인류는 암호화된 유전정보를 해독하기 위한 다양한 시도를 하였다. 그러나 1970년대에 이르러야 비로소 DNA 염기 서열 분석이 시작되었으며, 이후 유전자 증폭 기술이 개발됨에 따라 다양한 유기체가 가지고 있는 모든 유전정보를 분석하려는 노력이 이루어졌다[1]. 1986년 Thomas H. Roderic이 암호화된 유전체(Genome)를 분석하는 학문이라는 뜻의 유전체학(Genomics)이라는 용어를 최초로 사용하였으며, 전사체학 (Transcriptomics), 대사체학 (Metabolomics) 등의 다양한 학문 분야로 세부화되었다. 1990년대 중반 Marc Wilkins에 의해 단백질체(proteome)라는 용어가 사용되기 시작했으며, 단백질체를 연구하는 학문이라는 뜻을 지닌 단백질체학 (proteomics)이라는 용어가 학문 분야 전체에서 사용되기 시작했다. 이후 다양한 유기체의 생리 기능과 생명 현상의 이해를 위한 분자 수준의 연구가 수행되었으며 이를 위해 다양한 단백질체 분석 기법들이 활용되었다[2]. 본 원고에서는 단백질체 분석 절차 및 식품 산업에서의 단백질체학 적용 사례에 대해 정리하고 식품위생 및 안전성 분야에서의 단백질체학 활용 방향을 제시하고자 하였다.

2. 단백질체 분석법

단백질체 분석은 대개 전기영동(electrophoresis), 크로마토그래피(chromatography), 질량 분석법(mass-spectrometry)등을 기반으로 한가지 또는 몇 가지의 분석 방법의 조합을 통해 이루어진다[3,4]. 일반적으로 다양한 단백질들의 혼합물을 분리하기 위해 사용되는 방법으로 2-DE(2-dimensional electrophoresis)가 활용된다. 2-DE는 두 단계로 구분하여 수행되며 등전점(isoelectric point)을 기준으로 1차원적인 분류(1-DE, 1- dimensional electrophoresis)와 단백질 크기에 따라 분류하기 위한 전기영동(acrylamide 젤)을 통해 최종적으로 유기체에 혼합된 단백질을 분리하는 방법이다. 2-DE는 1단계 분석 시 분석하고자 하는 등전점 범위를 구분하여 분석이 가능하다. 모든 절차가 완료된 후 얻어진 acrylamide 젤은 다양한 염색 방법(Coomassie blue, Silver nitrate, Fluorescence satin 등)을 통해 시각화된다. 이를 통해 peptide 수준의 단백질 조각들의 위치와 발현도는 Spot 형태로 확인된다.

크로마토그래피 분석 방법 역시 peptide 분리에 사용되며 전기영동 방법과 함께 활용되는 기법이다. 이러한 크로마토그래피 분석 방법은 젤을 통해 분리하기에 매우 크거나 또는 매우 작은 단백질의 분리에 활용될 수 있으며, 극성의 등전점 또는 소수성을 갖는 단백질의 분리를 위해 일반적으로 활용되는 기법이다. 단백질의 분리를 위해 어떠한 방법을 선택하고 활용할지는 분석 대상의 단백질체 특징에 따라 고려되어야 하며, 분리된 peptide들은 다양한 질량 분석법을 통해 동정 된다[5].

3. 질량 분석법

질량 분석은 단백질이 가진 peptide의 질량 또는 아미노산 서열을 식별하는 분석 방법을 말하며 이를 통해 해당 단백질의 구조적인 정보를 확인할 수 있다. 질량 분석을 하기 위해 대상 샘플은 기체상태로 주입되며 이온화 되게 된다. 가장 일반적인 방법으로 electrospray ionization (ESI)와 matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)이 활용되는데 이는 단백질 또는 peptide에 대한 질량 정보를 원래의 상태를 유지하며 분석할 수 있는 효과적인 방법으로 알려져 있다. 질량 분석 방법은 그 원리에 따라 다양한 종류로 구분된다. 대표적인 방법으로 Quadrupole [6], Time of flight [7], Ion trap [8] 등의 방법이 활용되고 있다. Quadrupole 방법은 4개의 전극으로 된 4중 극장을 만들고 이를 통해 비적 회전을 유도하여 질량 스펙트럼을 분석하는 방법이다. Time of flight는 가장 간단한 질량 분석 방법으로 모든 이온들은 가속장에서 같은 에너지를 받게 되며 검출기까지 가속되면서 가벼운 이온은 먼저 검출되고 무거운 이온은 이후에 검출되는

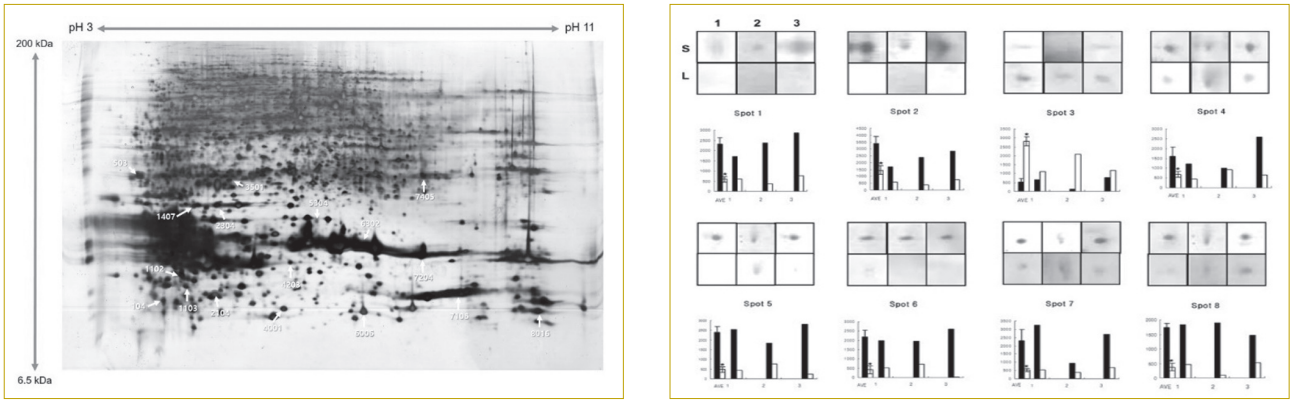


그림 1. 2-DE 분석 예

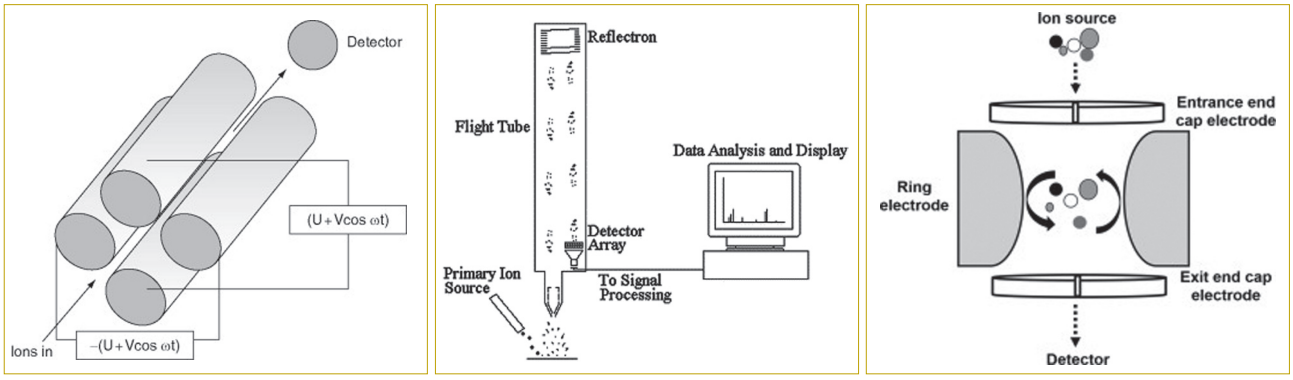
원리이다. Ion trap은 특정 주파수의 이온은 모아두고 나머지 이온은 방출하는 방법으로 선택적인 질량 분석이 가능하다. 이러한 다양한 방식의 분석 방법은 용도와 특징에 맞게 하나 또는 여러 가지 방법의 조합으로 구성하여 질량 분석에 활용하게 된다[9].

질량 분석법을 통해 확인된 peptide 또는 아미노산 염기서열은 생물정보 데이터베이스를 기반으로 하는 Peptide Mass Fingerprint 방법으로 식별된다. 이후 식별된 단백질들에 대한 다양한 정보 및 관련된 신호전달체계 등에 대한 분석도 생물정보학 프로그램들을 활용하여 이루어질 수 있다.

4. 식품 관련 단백질체학 연구 동향

1) 채소 및 작물

식물 단백질체학은 안전하고 영양가 있는 식물 먹거리를 생산하기 위한 식품 품질 및 재배 특성 등의 기술 개발을 위해 활용되었다. 특히 척박한 기후에서의 식물 생산성 향상을 위한 생물학적 메커니즘 및 단서를 확인하기 위해 많은 단백질체학 연구가 시도되었다. 현재까지 다양한 스트레스(건조, 홍수, 염분, 저온, 열, 방사능 등)에 내성을 갖는 단백질들을 확인하는 연구들이 수행되었으며, 이를 통해 불리한 환경조건에서도 재배 및 수확이 가능한 방법의 개발이 이루어졌다[10]. 최근 재조합 DNA기술을 통해



Quadrupole　　Time of flight　　Ion trap

그림 2. Quadrupole 원리[6], Time of flight 원리[7], Ion trap 원리[8]

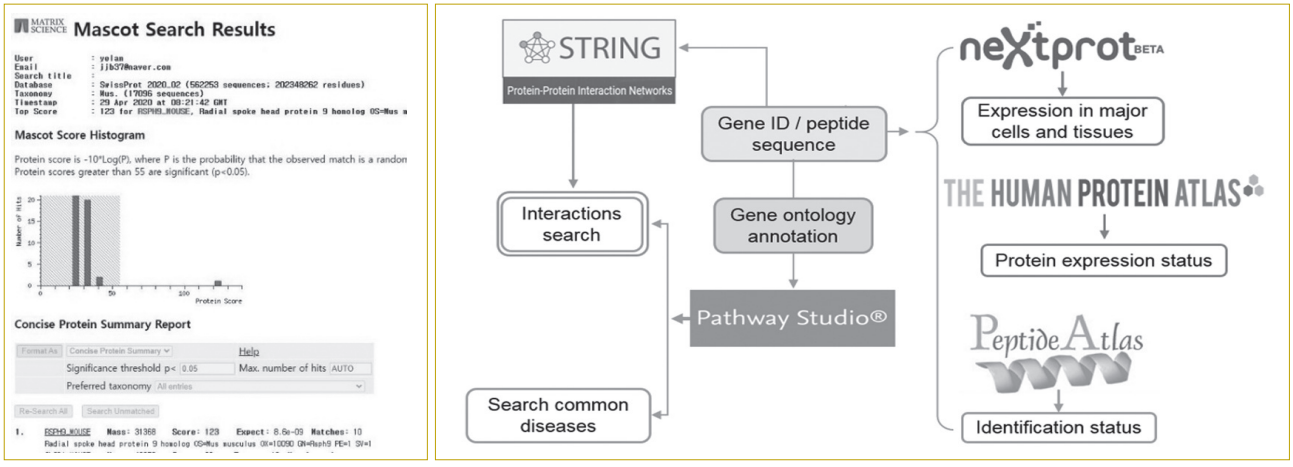


그림 3.Peptide Mass Fingerprint 분석 결과 예 및 생물정보학 분석 흐름도.

지역 재배 농가 작물의 DNA를 직접 조작하여 자연적인 성장 효율을 높일 수가 있었으며, 이외 항생제 스트레스에 대한 내성을 높이는 작물의 개발도 이루어졌다. 그러나 이러한 유전자 재조합 작물들의 식품 안전성에 대한 우려가 커짐에 따라 안정성 평가에 대한 요구가 꾸준히 이루어지고 있는 실정이다. 이를 위해 단백질체학은 다양한 유전자 재조합 작물의 식품 안전성 평가를 위해 활용되고 있다. 예로써, 유전자 재조합 옥수수와 원종 옥수수 간의 단백질체 분석을 통해 인체에 유해하거나 문제를 야기하는 단백질에 대한 스크리닝이 수행되었다[10]. 또한 단백질체학은 식물의 질병과 미생물 오염에 대한 분석을 위해서도 활용되고 있다. 이를 통해 식물의 성장과 인간의 건강에 치명적일 수 있는 독소에 대한 분석이 이루어졌으며, 미생물 오염에 의해 발생되는 곰팡이 독소 등과 관련한 다양한 연구가 수행되었다. 이와 더불어 다양한 박테리아 및 바이러스들의 단백질체 분석을 통해 식물에 오염되어 인간에 노출 시 심각한 질병을 야기하는 병원체에 대한 연구도 활발히 이루어졌다[10].

2) 우유와 치즈

우유는 다양한 영양분이 포함된 대표적인 동물성 식품 중 하나이며, 포유동물들은 모유를 통해 자손에게 영양분을 공급한다. 모유는 신생아의 해부학적 성장, 면역체계의 성숙, 소화관의 완성 등 신생아의 산후 발달에 기여하는 것으로 알려져 있다. 이처럼 모유에 포함된 단백질이 신체를 구성하는 요소로 사용되기 때문에 모유와 관련한 다양한 단백질체학 연구가 이루어졌다. 이와 더불어, 다양한 식품 산업에서의 유제품과 관련한 단백질체 연구도 수행되었다. 예를 들어, 우유의 비정상적인 glycosylation 또는 actosylation은 인간에게 알레르기 반응을 야기할 수 있음이 밝혀졌으며, 다양한 축종의 유성분(단백질) 분석을 통해 치즈 생산 시 필요한 발효 메커니즘의 이해가 이루어지게 되었다. 또한 우유 품질에 중요한 영향을 미치는 유방염과 관련한 많은 단백질체학 연구도 수행되었다[10,11].

3) 와인

포도에 있는 다양한 단백질들은 와인의 생산 품질과 직접적인 연관이 있음이 밝혀졌다. 이 단백질들은 와인 품질에 중요한 발효 및 혼탁을 유발하는데 관련이 있다고 알려졌으며, 이러한 특정 단백질을 확인하고 분석하기 위해 많은 단백질체학 연구가 수행되었다. 와인 관련 단백질은 대략 20~30 kDa의 크기를 보인다고 알려져 있으며, 현재 관련 단백질들의 기능과 메커니즘 분석을 위한 다양한 연구가 진행 중에 있다[10,11].

4) 육류와 육류의 품질

초기 육류 식품 분야에서의 단백질체학은 대부분 생산성 향상에 초점을 맞추어 활용되었다. 그러나 현재는 생산성 향상뿐만 아니라 육질과 관련한 바이오마커의 발굴 및 근육 대사와 관련한 메커니즘 규명을 위해 활용되고 있다. 이와 더불어 다양한 동물에서의 근육 관련 단백질 프로파일링 및 차등 발현된 단백질 패턴의 비교분석, 근육의 특성 분석 등의 연구가 수행되고 있다. 최근 단백질체학은 대체육 생산을 위한 연구에도 다양하게 활용되고 있다. 식물성 단백질을 활용한 대체육 및 근육 세포의 배양을 통해 만들어지는 배양육 생산에 있어 동물성 단백질의 특징을 알아보기 위한 다각도의 단백질체학 연구가 수행되고 있다. 식품 위생 및 안전성 측면으로는 생산성과 직결된 구제역, 조류 독감, 아프리카돼지열병 등 다양한 질병과 관련한 연구에도 단백질체학이 활용되고 있다[10,11].

5. 결론 및 제언

앞에서 설명했듯 단백질체학은 유기체를 구성하는 단백질체를 분석하여 각각의 생리적인 기능과 특징에 대한 메커니즘을 규명하는 학문이다. 단백질체학은 과거부터 현재까지 다양한 식품 산업 및 연구에서 활용되었다. 특히 단백질체학은 식품 독성, 위생, 안전성 평가에 활용 가능한 생명공학 분야로 관련한 기초 지식의 확장과 다양한 단백질 바이오마커 발굴을 위한 적용이 가능하다. 따라서 앞

으로 식품위생 및 안전성 관련 연구에서의 단백질체학의 활용이 기대되며, 이러한 연구 결과들을 기반으로 다양한 식품 관련 기술 개발과 기준 및 제도 마련이 가능하다 판단된다.

참고 문헌

1. Satya P Yadav. The wholeness in suffix -omics, -omes, and the word om. J Biomol Tech. 2007 Dec;18(5):277.
2. Paul R Graves, Timothy A J Haystead. Molecular biologist's guide to proteomics. Microbiol Mol Biol Rev. 2002 Mar;66(1):39-63.
3. A Mangé, V Bellet, E Tuaillon, P Van de Perre, J Solassol. Comprehensive proteomic analysis of the human milk proteome: contribution of protein fractionation. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2008 Dec 15;876(2):252-6.
4. Bertram Y Fong, Carmen S Norris, Kate P Palmano. Fractionation of bovine whey proteins and characterisation by proteomic techniques. Int Dairy J. 2008 Jan;18(1):23-46.
5. M P Washburn, D Wolters, J R Yates 3rd. Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology. Nat Biotechnol. 2001 Mar;19(3):242-7.
6. Fred A Mellon. MASS SPECTROMETRY | Principles and Instrumentation, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), 2003, academic press
7. Anna M Belu, Daniel J Graham, David G Castner. Time-of-flight secondary ion mass spectrometry: techniques and applications for the characterization of biomaterial surfaces. Biomaterials. 2003 Sep;24(21):3635-53.
8. Stefani N Thomas. Contemporary Practice in Clinical Chemistry (Fourth Edition), 2019, academic press.
9. J R Yates 3rd. Mass spectrometry and the age of the proteome. J Mass Spectrom. 1998 Jan;33(1):1-19.
10. D'Alessandro A, Zolla L. We are what we eat: food safety and proteomics. J Proteome Res. 2012 1;11(1):26-36.
11. Romina Pedreschi, Maarten Hertog, Kathryn S Lilley, Bart Nicolaï. Proteomics for the food industry: opportunities and challenges. Crit Rev Food Sci Nutr. 2010 Aug;50(7):680-92.