

Studies on Structures and Properties of Proteins: From Small Peptide (GGN4) to Large Protein (CRP)

박상호, 안희철, 이연희, 김종완, 박성진, 원형식, 이봉진

서울대학교 약학대학 물리약학실

NMR을 통한 단백질 연구는 그 구조 규명 뿐 아니라 단백질들의 다양한 물리, 화학적 특성들에 관한 연구를 가능하게 한다. 따라서, NMR을 통한 단백질 연구는 보통 CD (circular dichroism), DSC (differential scanning calorimetry), Fluorescence, UV 등 다른 기기들을 통한 연구와 병행된다. 서울대학교 약학대학 물리약학실의 NMR 실험실은 현재 다양한 분자량 범위의 약 15가지 단백질에 관하여 이러한 연구를 수행하고 있는데, 그 대표적인 것으로는 Gaegurine 4 (m.w. 3700), hrrs N-terminal extension domain (m.w. 8400), gp110 C-terminal domain (m.w. 11,000), S α CTD (m.w. 12500), Annexin I (m.w. 35,000), CRP (m.w. 47,000) 등이 있다. 그 중 가장 작은 peptide인 GGN4와 가장 큰 단백질인 CRP의 구조 및 특성에 관한 연구 결과들은 단백질 연구에 관한 전형을 제시할 수 있다.

GGN4는 한국산 개구리인 *Rana rugosa*종에서 분리한 antimicrobial peptide로서 Gram (-), (+) bacteria, fungi, protozoa 등에 대하여 antibiotic activity가 크고, 반면 human red blood cell에 대한 hemolytic activity가 낮아서 약학적 효용가치가 높을 것으로 기대되고 있다. CD 실험을 통하여 GGN4는 trifluoroethanol/water mixture, dodecylphosphocholine, sodium dodecyl sulfate micelles 상에서 α -helix 구조를 취하고 있음을 밝혔고, NMR 실험을 통하여 3차 구조를 계산한 결과 amphiphathic한 N-terminal의 helix와 hydrophobic한 C-terminal의 helix가 flexible한 turn region으로 연결된 구조를 취하고 있음을 밝혔다. 현재는 spin-label된 lipid를 이용하여 membrane 과 GGN4의 결합 구조를 연구 중이다. 이로부터 GGN4의 정확한 antimicrobial

mechanism을 규명할 수 있을 것으로 사료된다.

CRP(Cyclic AMP Receptor Protein)는 homo-dimeric protein으로서 cAMP 결합에 의해 구조적으로 활성화 된 후 DNA에 결합하고 여기에 RNA polymerase가 interaction함으로써 많은 prokaryote gene의 전사를 조절하게 된다. 현재 CRP의 구조는 cAMP가 결합된 상태와 또한 DNA에 결합한 형태의 결정 구조가 밝혀져 있지만 apo-CRP의 구조는 밝혀져 있지 않다. 따라서 apo-CRP의 구조 및 cAMP에 의한 구조적 활성화 mechanism이 주된 관심의 대상이 되고 있다. CRP는 분자량의 한계로 인하여 NMR 실험에 어려운 점이 많지만, 본 실험실에서는 triple resonance 등을 이용하여 그 2차 구조를 계산할 수 있었고, 이를 바탕으로 cAMP에 의한 활성화 mechanism으로서 Scissors Model을 제시하였다. 또한 이 model을 확인하기 위하여 ^{13}C -carbonyl NMR 실험과 enzyme digestion, Fluorescence, CD 및 DSC 실험을 수행하였다. 이러한 실험 결과들은 CRP의 용액상에서의 구조 변화와 열역학적 행동에 관한 구체적인 상을 제시한다. 현재 2차구조를 바탕으로 용액상에서의 3차구조를 규명하기 위한 NMR 실험들과 RNA polymerase와의 interaction에 관한 실험들이 진행중이며, 따라서 그 구조적 활성화 과정 및 전사조절 mechanism을 명확하게 밝힐 수 있을 것으로 기대된다.