

당전이효소의 열안정성 해석

Thermal stability analysis for a glycosyltransferase

정재일† · 박영결*

Jay Jeong, and Younggeul Park

1. 서론

본 연구에서는 대상 단백질의 단순화된 모델을 기반으로 동강성을 계산함으로써 단백질의 열안정성을 해석하는 것을 목적으로 한다. 이전연구[1]에서 수행되었던 CGEN (Corase Grained Elastic Network) 모델을 기반으로 한 방법론을 이용하여 새로운 단백질족(Protein family)인 당전이효소(Glycosyltransferase)에 대한 호열성 및 중온성 단백질에 대하여 동강성을 계산하고 이를 이용하여 제시된 단백질 모델의 특징을 제시하였다.

2. 정규모드 해석방법

본 연구의 기본이 되는 방법론은 이전연구에서 이미 제시하였기 때문에 본 논문에서는 핵심적인 내용을 간단하게 소개한다[1].

단백질을 단순하게 표현한 CGEN 모델 기반의 정규모드는 해당 시스템의 운동방정식의 해를 구한 후 이를 고유치 문제로 해석함으로써 구할 수 있다. 일반적으로 단백질 문제에서는 각 대표질점의 질량을 모두 동일하다는 가정하에 해석을 수행하고 계산되는 고유진동수를 이용하여 상대적인 동강성을 유추하는 연구를 수행하였다.

본 연구에서는 아미노산의 중심 원자인 알파탄소만을 고려하는 모델을 사용하였다. 또한 각 알파탄소가 대표하는 잔기(residue) 사이의 상호작용을 스프링으로 모델링 함으로써 CGEN 모델 기반의 강성 행렬을 생성하였다. 이 알파 탄소간의 연결을 결정하는 것은 공유결합, 수소결합, 이온결합, 이황결합, 그리고 반데르발스 힘(Van Der Waals Force)이 있다. 각 결합은 종류에 따라 다른 강성의 스프링으로 각각 모델링 하였으며, 결합 방식에 따라 정규모드와 정규주파수의 모양과 크기가 달라지게 된다.

3. 당전이효소의 열안정성

3.1 당전이 효소

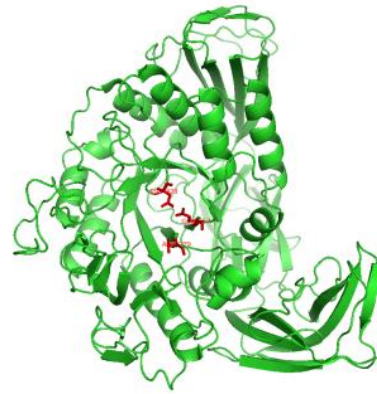


Fig 1 Active site of Glycosyltransferase (1CDG)

당전이효소(Glycosyltransferase)은 680 여개의 아미노산으로 이루어진 비교적 큰 단백질이다. 본 연구에서는 호열성 단백질로 40~65°C 에서 활성화되는 1CYG 를 선택하였으며, 비교 대상으로 30~40°C 에서 활성화되는 1CDG 를 선택하였다.

Fig.1 에서와 같이 이 단백질은 4 개의 도메인으로 이루어져 있으며 그 중의 가장 큰 도메인이 액티브 사이트를 포함하고 있다. 액티브 사이트의 위치는 전체 구조의 가운데 베타 판들의 사이에 위치하고 있다. 이 단백질의 액티브 사이트의 위치는 1CYG 를 기준으로 residue 324, residue 253, 그리고 residue 225 를 포함하는 부분이며, 1CDG 의 액티브는 328 번, 257 번, 그리고 229 번의 residue 로 이루어져 있다. 두 경우 모두 베타판들 사이에 위치한다[2].

3.2. 정규 모드 해석 결과

정규모드 해석결과 수소결합을 모델링하기 위한 길이 제한 조건, $d = 3.9\text{\AA}$, 각도 제한조건, $\theta = 90^\circ$, 을 사용하였을 경우에, Fig.2 에서와 같이 단백질군 내에서는 고유치의 값이 중온성 단백질의 값이 호열성 단백질의 결과보다 더 높게 나오는 것을 볼 수

† 교신저자; 국민대학교 기계자동차공학부
E-mail : jayjeong@kookmin.ac.kr
Tel : (02) 910-4419, Fax : (02) 910-4419
* 국민대학교 대학원 기계설계학과

있다. 이 결과는 수소결합의 기준거리를 1.9Å로 제한한 모델에서 두번째 모드부터 네번째 모드까지 호열성이 높게 나오며 각도를 130° 와 160° 로 제한을 두게 되면 세번째와 네번째 모드에서만 호열성이 높은 값을 가지게 된다. 따라서, 호열성 단백질과 중온성 단백질의 특성값으로 정규모드해석을 통한 고유치는 수소결합의 거리, 각도기준에 민감한 것을 알 수 있다.

당전이효소에서는 액티브 사이트의 공간이 개폐되는 주도적 운동은 나타나지 않으며 도메인 간의 접힘이나 비틀림 같은 모드만이 나타나게 된다. 이 단백질 또한 전체 모델에서 비슷한 모드가 나타난다. Fig. 3 에서 보듯이 도메인은 움직이지만 액티브 사이트를 이루고 있는 잔기는 거의 상대적 변화가 없는 것을 확인 할 수 있다. 이러한 현상은 당전이효소의 전체 해석 결과에 동일하게 나타나게 되며 각 구역의 움직임만 관찰될 뿐 액티브사이트의 공간이 개폐되는 주도적운동은 나타나지 않는다.

4. 결 론

당전이효소는 수소결합의 기준거리를 1.9Å로 제한한 경우에 중온성 단백질의 고유치 값이 호열성 단백질의 고유치 값보다 낮게 나오는 특징을 가지고 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 수소결합의 각도를 130° 와 160° 로 제한을 두게 되는 경우에만 세번째와 네번째 모드에서 호열성이 높은 값을 가지게 된다. 즉, 일반적인 경우에서 호열성과 중온성의 특징을 반영할 수 있는 새로운 모델링이 필요하다는 결론을 얻을 수 있었다.

Reference

- [1] Park, Y.G., Won, C.J., Jeong, J.I., "Thermostability prediction of protein structure by using elastic network model," 2008 KSME Autumn conference, Oct 2008.
- [2] Lawson, C.L., van Montfort, R., Strokopytov, B., Rozeboom, H.J., Kalk, K.H., de Vries, G.E., Penninga, D., Dijkhuizen, L., Dijkstra, B.W. , "Nucleotide sequence and X-ray structure of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 in a maltose-dependent crystal form," *Journal of Molecular Biology*, 236: 590-600, 1998

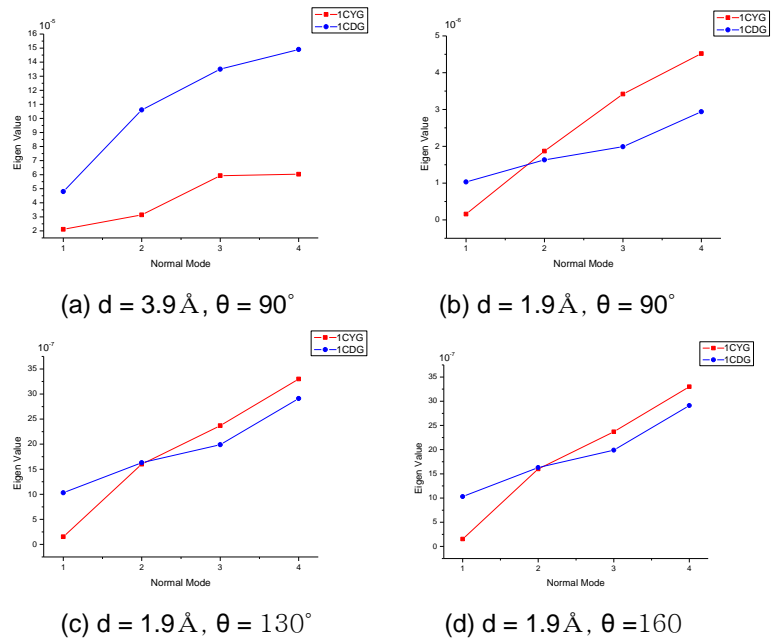


Fig. 2 Eigen value of Linking matrix. d = cutoff distance of hydrogen bonds, θ = minimum angle for hydrogen bonds

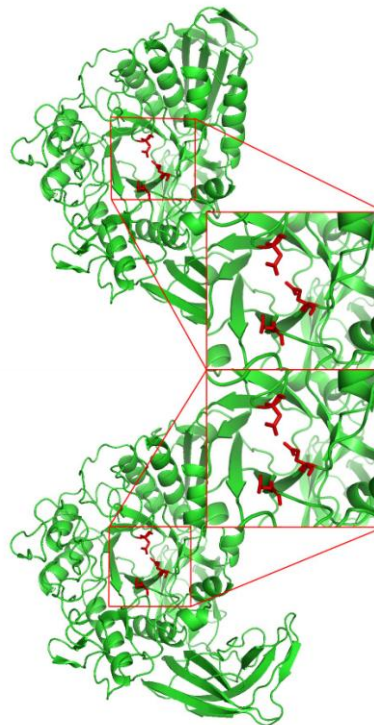


Fig. 3 Motion of 1CYG