

pH변화에 따른 단백질 노말모드 해석

Normal Mode Analysis of Proteins by pH change

정재일†

Jay Il Jeong†

1. 서 론

본 연구는 메타모델링 기법⁽¹⁾을 이용하여 pH가 다른 경우에 단백질의 열안정성과 동적강성과의 상관관계를 찾아내는 것을 목적으로 한다. 단백질의 경우 물속에서 (더 정확하게는 물분자 들 사이에서) 생체를 작동시키는 작용을 하게 된다. 실제로 인간 혹은 생명체의 몸속에는 여러 종류의 산성도를 가지는 수용액이 존재하며, 위, 신장, 간등에서 이와 같은 차이를 극복하면서 음식물을 소화 시키거나 세포를 분화시키거나하는 단백질의 작용이 필수적이다. 즉, 산성 및 알칼리성의 수용액에서 단백질의 활성도 혹은 열안정성 문제는 단백질의 작동원리를 해석하는 데 매우 중요하며, 이와같은 이론을 기반으로 활성정도를 설계할 수 있는 설계기준을 제시함으로써 바이오 시밀러와 같은 제약기술에 응용될 수 있을 것이라 생각된다.

본 연구에서 수행한 연구 방법은 다음과 같다. 탄성망 모델을 기준으로 MATLAB프로그램을 작성하였으며, 이를 바탕으로 pH가 서로 다른 상태에서 얻어진 단백질 구조의 열안정성 해석을 수행하였다. 관련하여, 물분자가 직접 상호작용하는 단백질 표면에 있는 Residue들과 내부의 Residue들을 계산하여 각 Residue들의 상호작용이 달라질 때의 탄성망 모드해석을 수행하였다. 이를 통하여, 같은 단백질 분자의 다른 pH에서의 활성정도 및 원인에 대한 고찰을 수행하였다.

2. 연구결과

pH에 따라 물분자와 서로 연동하는 양성자

(Proton)의 개수가 결정되게 되며, 이에 따라 단백질 분자내부의 화학결합이 영향을 받게 된다. 일반적으로 이황결합(disulfide bonds) 나 공유결합의 경우에는 결합에너지가 수소결합에 비해서 매우크기 때문에 pH에 따른 주위 환경의 변화로 그 화학결합이 끊어지지 않는다. 하지만, 상대적으로 결합에너지가 작은 수소결합이나, 혹은 두 원자사이의 전하차이에 의한 결합인 이온결합은 pH에 따라 영향을 받게된다. 이전 연구에서는 일반적으로 공유결합이나 이황결합의 결합에너지를 일반적인 수소결합 에너지의 100배로 해석하는 경우도 있다.

먼저 pH에 따른 수소 결합의 경우에는 물분자와 서로 상호작용하는 Sidechain이 영향을 받게될 것임은 분명하지만, 벤젠고리를 가지는 페닐알라닌(phenylalanine)과 같이 좀 더 복잡한 상호작용을 하는 경우도 존재한다.

pH에 따른 이온결합의 경우에는 수소결합과는 달리 상대적으로 쉬운 모델링이 가능하며, 일반적으로 이온결합이 pH따라 가장 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 PIC 서버 (<http://crick.mbu.iisc.ernet.in/~PIC/>) 를 이용하여, Solvent에 노출되어 있는 이온결합을 찾아내는 방식을 사용하였다.

Human prion protein 중에서 일부 Globular domain에 대한 해석을 수행하였다. 프리온은 광우병을 일으키는 원인으로 알려져 있으며, 단백질의 일종으로 Misfolding되어진 Prion이 다른 프리온 단백질의 misfolding을 유발하는 기전을 가지고 있어 기하급수적으로 그 수가 늘어나게 되고 이것이 뇌의 신경세포의 신호전달을 막아 병을 유발하는 원인이 된다.

이 도메인은 전체 prion단백질의 misfolding이 시작되는 점으로 믿어지고 있으며, 이 부분에서의 안정성을 올리는 방법을 찾아내는 것이 이전에 수행된

† 정재일; 정회원, 국민대학교
E-mail : jayjeong@kookmin.ac.kr
Tel : 02-910-4419 , Fax : 02-910-4419

연구의 목적이 되었다.

현재 단백질의 형상은 X-ray crystallography를 이용하여 구조가 밝혀진 두가지의 단백질의 형상을 Cartoon형식을 빌어 나타내고 있다. 이 두 구조는 거의 비슷한 Sequence를 가지고 있으며, 그 길이도 101개로 동일하다. 다만, 1HJM은 pH7에서 구성되어지는 단백질구조이며, 해석 결과 64개의 수소결합과, 1개의 이황결합으로 구성되어 있다. 1QM2의 경우는 pH 4.5인 산성환경에서 단백질을 단백질 결정으로 만든것이며, 58개의 수소결합 1개의 이황결합 및 1개의 이온결합으로 구성된다.

그러나, 단백질 Domain 각 부분의 열안정성은 pH 7.0인경우가 pH4.5에서 구성된 1QM2보다 훨씬 높은 것으로 보고되었다. 열안정성은 CD (Circular dichroism) 과 같은 원형편광 스펙트럼 방법을 통하여 측정되었다.

메타모델링의 결과 1QM2는 총 58개의 수소결합을 가지며, 1개의 이황결합 및 1개의 이온결합을 가진다. 전체 결합의 개수를 비교하면, 전체 결합의 개수는 이 경우 348개이며, pH 7.0에서 결정이 구성된 1HJM과 비교했을 때 겨우 5개의 결합숫자의 차이만이 존재한다. 또한 수소결합의 개수나 이황결합의 경우에는 거의 숫자가 차이가 나지 않는다.

하지만, 앞서서도 언급했듯이 두 단백질의 안정도는 매우 다르다고 보고되어 있으며, 특히 이온결합이 존재하는 1QM2가 더 높은 열안정성을 가질 것으로 기대된다. 하지만, 실제 CD측정을 통하여 얻어진 결과는 이와는 반대인 결과를 보이게 되며, 오히려 1HJM이 더 높은 열안정성을 가진다는 것이 실험적으로 밝혀졌다.

이와 같은 두가지의 모델링에 대하여 탄성망 구조를 구성하고 모드해석을 한 결과가 아래 그림에 나타나 있다. 아래는 1HJM 과 1QM2에 대하여 non-rigidbody normal mode에 대한 natural frequency를 계산한 결과이다. 아래 결과에서 보듯이 같은 개수의 질량과 비슷한 수의 스프링으로 모델링 되어진 두가지의 구조에 대하여 확연하게 Natural frequency가 차이가 남을 확인할 수 있다. 즉, 이 연구 결과는 거의 같은 모양과 거의 같은 구성을 가지는 두가지의 Protein이 어떤 pH에 따라 다른 식으로 안정도를 달리 적응하는 지를 보여주는 좋은 예라고 할 수 있다.

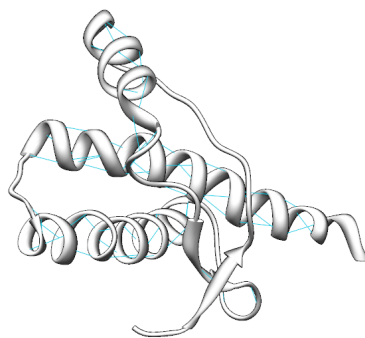


Fig.1 Cartoon representation of 1HJM, (pH 7)

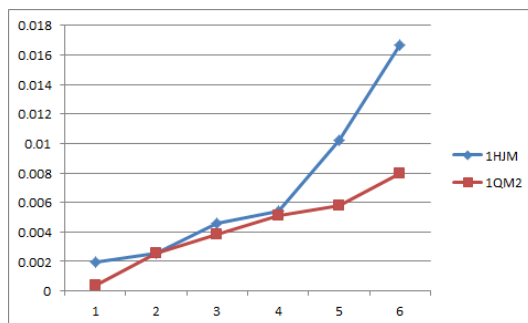


Fig.2 Normalized natural frequency of 1HJM and 1QM2

3. 결 론

본 연구는 메타모델링 방법론과 진동학적인 이론을 기반으로 공학적 입장에서의 단백질의 활성화에 대한 설계방법론을 개발하였다. 이전연구에서 개발된 탄성망구조를 이용한 단백질의 활성화 온도와 동적강성사이의 모델링을 이용하여 수용액의 pH변화시의 단백질의 열안정성을 해석하였으며, pH가 변화한 경우의 단백질의 구조가 어떤 동적강성을 갖는지를 모델링하고 차후 설계기준으로 정의할 수 있는 매개변수를 구성하였다.

후 기

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임 (2010-0015423)