

## 자기조립 나노구조체의 단위체 구조 연구

유영재, 조영범, 이민준, 신석민

서울특별시 관악구 신림동 관악로 1, 서울대학교 화학부 동역학이론연구실, 151-747.

E-mail: young9u9@snu.ac.kr

최근 펩티드를 포함한 다양한 물질들의 자기조립 (self-assembly) 나노구조체에 대한 연구들이 많이 진행되고 있다. 이는 이러한 분자들로 구성된 구조체들이 환경친화적이며, 생체 나노구조체를 묘사함을 통해 세포소기관의 기능 역시 모방할 수 있다고 기대되기 때문이다. 만약 분자 수준에서 자기조립을 형성하는 단위체를 살펴본다면 자기조립 나노구조를 개발하는 방법에 대한 통찰을 얻을 수 있을 것이다. 본 연구에서는 최근에 Wen Li 그룹에서 개발한 쉽게 합성할 수 있는 자기조립 펩티드의 적합성을 분자 수준에서 규명하였다. 이를 위해 복제계-맞바꿈 분자 동역학 시뮬레이션 (replica exchange molecular dynamics simulation)을 통해 구조를 샘플링 (sampling)하였고, 얻어진 구조들을 평균 제곱근 편차 (root mean square deviation, RMSD)를 기준으로 클러스터링하였다. 그 결과로 매우 우세한 상대빈도를 보이는 하나의 구조를 얻었으며, 그 구조가 탄소 골격과 잔기의 배열의 측면에서 자기조립 펩티드로 사용되기에 적합함을 규명하였다.

**핵심어 :** 자기조립 나노구조, 복제계-맞바꿈 분자 동역학, 클러스터링

### 서론

인공 나노구조 (nanostucture)의 개발은 생체에 적합한 나노물질의 개발이나, 생체 나노구조의 모방에 있어서 중요한 의미를 가진다. 특히 생체 나노구조의 모방은 단백질을 비롯한 세포소기관의 기능 재현 및 활용으로 발전될 수 있다는 점에서 큰 가능성을 가진다. 예컨대 다양한 유형의 막관통 단백질 (transmembrane protein)로 자주 이용되는 고리 모양의  $\beta$ -배럴 단백질 ( $\beta$ -barrel protein)을 모방한 나노구조는 나노리액터 (nanoreactor), 이온 선택성 구멍 (ion-selective pore), 그리고 새로운 항생제의 개발에 쓰일 수 있다.<sup>1</sup> 한편 이러한 생체 나노구조의 형성은 주로 비공유적인 힘에 의한 자기조립 (self-assembly) 과정에 의해 이루어지며, 따라서 펩티드와 같은 작은 구성요소들을 이용한 자기조립에 대한 연

구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 자기조립 과정을 나노구조 형성에 이용할 경우, 실제 단백질의 접힘 구조 (protein fold)가 하나의 긴 폴리펩티드 사슬로 이루어져있을지라도, 상대적으로 단순한 펩티드 단위체 (building block)를 이용하여 그 구조를 모방할 수 있다.<sup>1</sup> 더불어 비공유적인 힘을 이용하는 자기조립은 가역적인 과정이므로, 손님 분자 (guest molecules)와 같은 외부 자극에 반응하여 채널을 형성할 수 있는 나노섬유 (nanofiber)의 개발에도 활용 가능하다.<sup>2</sup>

펩티드의 자기조립에 기반하는 이러한 인공 나노구조의 연구에 있어서 환상체 (toroid) 형태의 나노구조는 많은 막관통 단백질에서 발견되는 중요한 구조 모티브 (structural motif)임과<sup>3</sup> 동시에 인공 막관통 채널의 형성을 위한 새로운 접근 방식을 제공한다는 점에서 주목

할 만한 대상이다.<sup>1</sup> 수용성 3탄당인산이성질체 화효소 (triosephosphate isomerase)  $\beta$ -배럴 접힘 구조와 익히 잘 알려진 녹색형광단백질의 패밀리 단백질 (green fluorescent protein family)이 전형적인 환상체 형태의 집합체다.<sup>4</sup> 따라서 인공 환상체 나노구조의 개발을 위해 많은 연구가 진행되어 왔으며, 이전의 연구들은 대체로 환상체 모양의 형성을 위해  $\beta$ -병풍 ( $\beta$ -sheet) 펩티드에 큰 친수성 치환기를 도입하는 방식을 이용해왔다.<sup>1</sup> 이러한 치환기의 도입은 입체 장애 효과 (steric effect)를 통해 계면 곡률 (interfacial curvature)의 형성을 유도함으로써 펩티드의 환상체 형태로의 자기조립을 가능케 하였다.<sup>1</sup> 하지만 이와 같은 방식은 그 과정이 매우 복잡하고, 펩티드 합성을 위한 다단계의 화학 반응이 요구되므로 실제로 활용되기 힘들다는 문제점을 가졌다.

이에 대해 최근 Wen Li의 그룹은 이전 방식

의 복잡함을 해결할 수 있는 새로운 방법을 제안하였다.<sup>5</sup> 자기조립의 원동력이 되는 요소에는 소수성 (hydrophobic), 정전기적 (electrostatic), 수소 결합 (hydrogen bonding),  $\pi$ - $\pi$  상호작용이 있는데, 이 중  $\beta$ -병풍 펩티드 골격 사이의 소수성 상호작용이 나노구조의 1차원적 성장을 촉진시키고, 친수성 머리간의 정전기적 반발력이 곡률 형성을 유발한다는 점에 착안하여, 소수성 상호작용과 정전기적 반발력간의 적절한 균형을 통해 환상체 형태로의 자기조립을 성공시킬 수 있었다.

이 때 두 요인의 자기조립 과정에 대한 영향을 확인하기 위해 그림 1과 같이 구조의 일부분이 다른 P1, P2, P3의 세 가지 펩티드를 통해 실험하였으며, 이 중 양쪽 말단에 라이신 (lysine)을 가지고, 트립토판 (tryptophan)과 tri(ethyleneglycol) monomethyl ether가 붙은

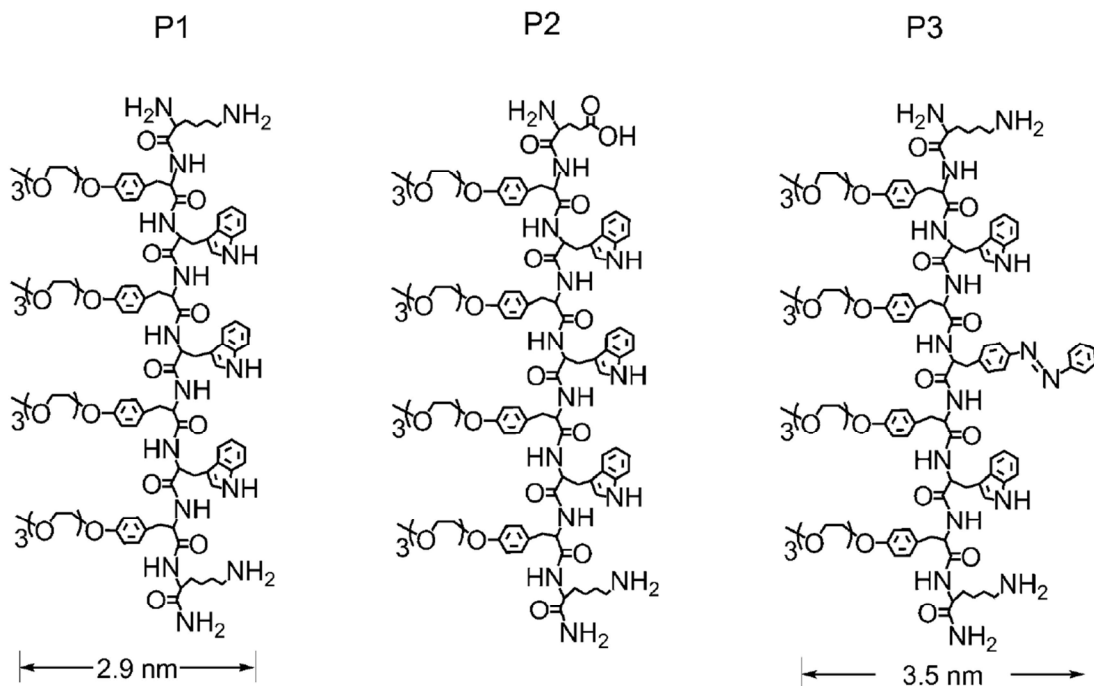


그림 1. Wen Li 그룹에서 합성한 펩티드 P1, P2, P3의 분자 구조

타이로신 유도체 (tyrosine derivatives)들이 교대로 위치하는 P1만이 확실하게 환상체 형태로 조립되었다. P2와 P3의 경우 두 요인이 적절히 균형을 이루지 못해 1D 나노리본 구조를 형성하게 된 것으로 판단되었다.

본 논문에서는 이 중 성공적으로 환상체 형태를 형성한 P1 분자에 대해서, 그 분자가 가장 높은 빈도로 가지는 구조를 계산하고, 그 결과를 토대로 P1이 환상체 형태로 자기조립을 이룰 수 있는 이유를 추론한다. 계산 방법으로는 모든 최저점에서의 구조를 고려할 수 있도록 복제계-맞바꿈 분자 동역학 시뮬레이션 (replica exchange molecular dynamics simulation)을 이용하며, 샘플링한 구조들을 평균 제곱근 편차 (root mean square deviation, RMSD) 값을 기준으로 클러스터링한다. 계산 결과를 통해 Wen Li 그룹에서 합성한 펩티드의 적합성을 평가한다.

#### 이론 및 계산방법

복제계-맞바꿈 분자 동역학 시뮬레이션 (Replica Exchange Molecular Dynamics Simulation)

본 연구에서는 P1의 계산된 구조를 통하여 그 구조가 환상체 형태로의 자기조립에 적합한지 이론적으로 판단하고자 한다. 이를 위해서는 P1이 유의미한 확률로 가질 수 있는 모든 구조를 계산하고, 그 구조를 범주화 시킨 후에 통계적으로 가장 높은 확률을 가지는 범주에 해당하는 구조를 얻어야 한다. 따라서 퍼텐셜 에너지 (potential energy)상에서의 최저점에 해당하는 구조들을 가능한 한 많이 샘플링 (sampling) 할 수 있어야 한다. 구조 예측을 위한 샘플링에 있어서 여러 초기 구조에서 국소 에너지 최소화 (local energy minimization)

을 반복하는 방법이 있으나, 이는 오랜 시간이 소모되므로 효율적이지 못하다. 구조를 변화시킨 다음 확률적으로 최저화 결과를 받아들이는 몬테 카를로 (Monte Carlo)를 이용한 최저화나, 온도를 서서히 낮추는 모사 어닐링 (simulated annealing)의 경우, 전체 최적화 (global optimization)를 통한 구조 예측에는 효과적일 수 있으나, 열역학적 샘플링 (thermodynamic sampling)이 불가능하며 국소 최저점까지 포함하여야 하는 이번 연구의 경우에 적합하지 못하다. 따라서 이번 연구에서는 여러 사본을 한 번에 계산에 고려하는 복제계-맞바꿈 (replica exchange) 방법을 이용한다.

복제계-맞바꿈 시뮬레이션은 특정 계 (system)의 여러 사본에 대해 무작위적인 초기 상태를 부여한 후, 서로 다른 온도에서 평형점을 찾아가도록 만드는 방식으로, 서로 다른 온도에 있는 사본들이 일정 확률로 서로 교환된다는 점이 핵심적인 원리로 작용한다.<sup>6</sup> 낮은 온도에 있는 사본의 경우 에너지 장벽에 갇혔을 때, 다른 에너지 범위에 대해 샘플링을 진행할 수 없지만, 일정 확률로 다른 온도의 사본과 교환될 수 있다면, 더 높은 온도에서 샘플링이 진행됨에 따라 기존의 에너지 장벽을 극복하고 다른 에너지 범위에 대한 샘플링을 진행할 수 있게 된다. 따라서 모든 에너지 범위에 대한 샘플링이 요구되는 이 연구에 적합한 계산 방식이라고 할 수 있다. 이 때 교환을 받아들이는 확률은 Metropolis criterion에 기반하여 결정되며, 이 방법은 세부 균형 (detailed balance)을 만족하므로 열역학적 샘플링이 이루어져 열역학적 성질에 관한 정보도 얻을 수 있다는 장점을 가진다.

한편 계의 크기가 클수록 에너지 범위가 넓어지므로, 더 많은 복제계가 요구된다. 따라서

복제계의 수는 계의 크기에 따라 결정된다. 본 연구에서는 16개의 복제계를 이용하여 계산을 진행하였다 (264.11, 280.68, 298.15, 316.57, 335.98, 356.43, 378.00, 400.75, 424.70, 449.96, 476.52, 504.58, 534.11, 565.25, 598.07, 632.65 K). 복제계 사이의 교환확률은 약 35-40 %였다. 시간 간격은 2 fs로 설정되었고, 총 100 ns 동안 계산을 진행하였다. 힘 장 (force field)으로는 AMBER 96,<sup>7</sup> OBC GB/SA implicit solvation<sup>8</sup> 을 사용하였다. 1 ps마다 langevin thermostat 을 사용하여 일정온도를 유지하였다. 계산 결과는 에너지에 대해서는 0.2 ps 마다, 구조에 대해서는 0.4 ps마다 기록하였다. 분석에는 298.15 K에서의 결과만을 사용하였다.

## 결론 및 토의

계가 안정화된 이후의 결과만을 분석에 이용하기 위해, 시간에 따른 각 복제계의 퍼텐셜 에너지 변화를 그림 2와 같이 도시하였다. 계산 시작 후 퍼텐셜 에너지가 빠르게 안정화되어 열역학적 변동만 보이는 것을 확인할 수 있었다. 298.15 K에서의 복제계의 처음 30 ns 동안의 시간에 따른 평균 제곱근 편차, 회전 반지름 (radius of gyration)의 변화는 그림 3과 같다. 계산 초기 이후 물리량의 값이 급격하게 증가하지 않고 안정화되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 이후의 구조 분석을 위해서는 90-100 ns 동안에서의 결과만을 이용하였다.

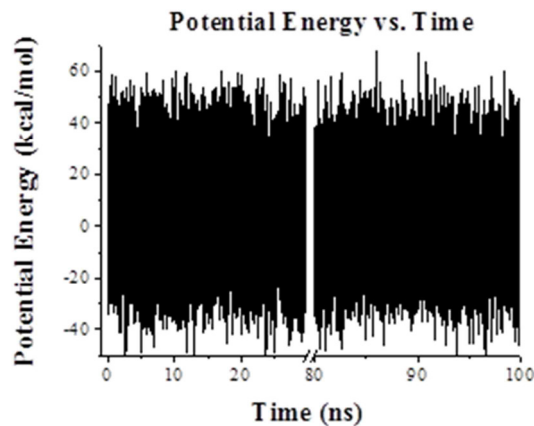


그림 2. 100 ns 동안의 시간에 따른 퍼텐셜 에너지.

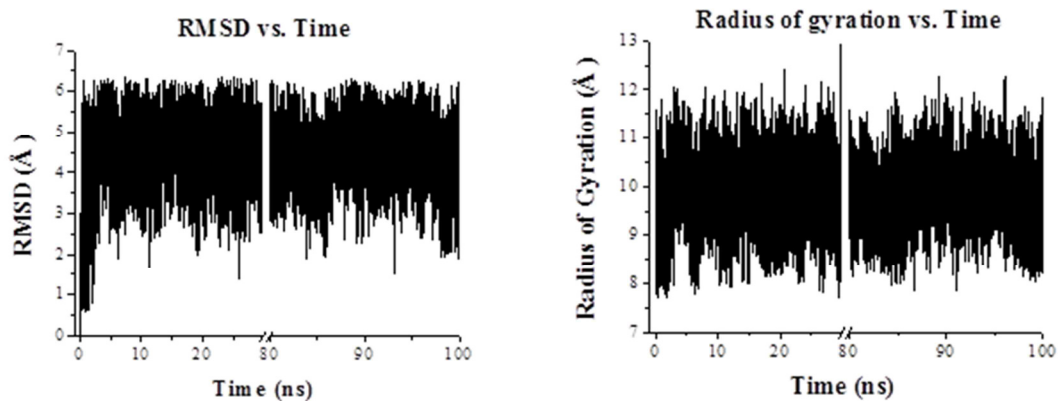


그림 3. 30 ns 동안의 시간에 따른 RMSD, 회전 반지름

한편 복제계-맞바꿈이 유효하게 이루어졌는지 확인하기 위해, 90-100 ns 부근에서의 퍼텐셜 에너지에 따른 각 복제계의 확률 분포를 계산하였다. 16개의 온도에서 얻어진 확률 분포는 그림 4와 같으며, 이웃한 복제계간의 확률 분포가 충분히 겹쳐서 유효한 맞바꿈이 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 복제계의 선정 및 복제계의 개수 설정이 적절했

며, 계산이 올바르게 수행되었음을 확인하였다.

**말단간 거리 (end-to-end distance)에 따른 구조의 상대빈도**

298.15K에서의 복제계가 샘플링한 구조들에 대해서 말단간 거리를 계산한 후, 1Å 간격으로 말단간 거리에 따른 구조의 상대빈도를 계산하였다. 그 결과는 그림 5와 같았다.

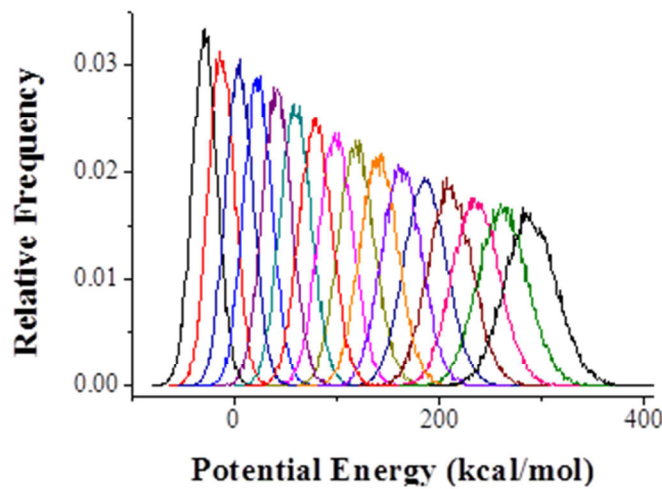


그림 4. 퍼텐셜 에너지에 따른 각 복제계의 확률 분포

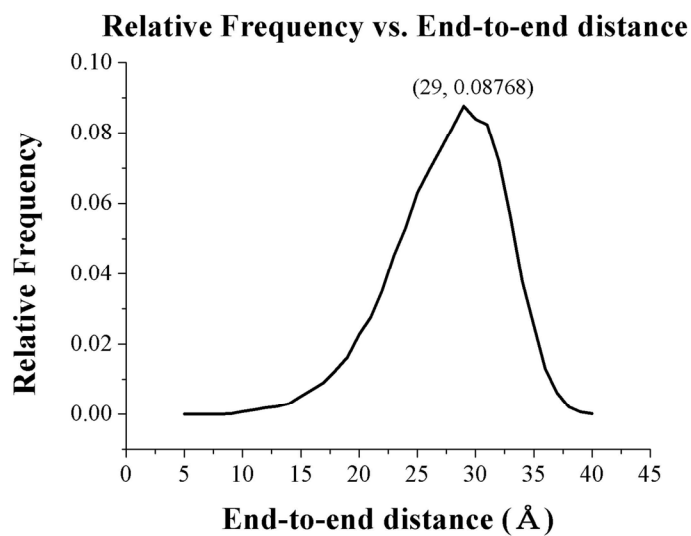


그림 5. 말단간 거리에 따른 구조의 상대빈도

그림 5에서 볼 수 있듯이, P1 분자는 28-29 Å의 말단간 거리를 가지는 구조를 가장 높은 비율로 가졌다. P1의 양 끝에서 친수성 머리를 이루는 라이신 잔기가 양성자화 되어 (+) 전하를 띠기 때문에, 정전기적 반발력에 의해 일정 거리 이하로 좁혀지지 못하는 것으로 판단된다. 더불어 분자 전체의 길이에 의해 말단간 거리의 최대 거리가 제한되기 때문에 28-29 Å에서 최대 비율이 얻어진 것으로 보인다.

### 클러스터링 및 P1의 분자 구조

복제계-맞바꿈 시뮬레이션을 통해 샘플링한 P1의 구조들에 대해 RMSD를 기준으로 클러스터링하였다. 이를 통해 비슷한 구조들을 각각의 그룹들로 묶고 (그림 6), 각 그룹의 상대빈도를 비교하였다 (표 1). 이 중 클러스터 1이 매우 우세한 빈도를 보였다. 클러스터 1의 말단간 거리는 29.59 Å으로 (그림 6(a)), 이는 앞

서 말단간 거리에 따른 P1 구조의 상대빈도를 분석했을 때 28-29 Å이 최대값으로 얻어졌던 결과 (그림 5)와 상응한다.

표 1. 클러스터 1-5의 상대빈도.

클러스터	1	2	3	4	5
상대빈도(%)	97.8	1.1	0.7	0.3	0.1

매우 우세한 빈도로 나타난 클러스터 1의 구조가 실제 P1이 가지는 구조로 생각된다. 이 구조는 몇 가지 측면에서 P1이 환상체 형태로 성공적으로 자기조립 된다는 Wen Li 그룹의 선행연구 결과를 뒷받침한다. 클러스터 1은 펩티드의 탄소 골격이 대체로 한 방향으로 뻗어 있는 형태를 가지므로, 측면으로 다른 펩티드가 반데르발스 인력으로 붙어나가면서 자기조립을 하기에 적합한 구조를 가진다.

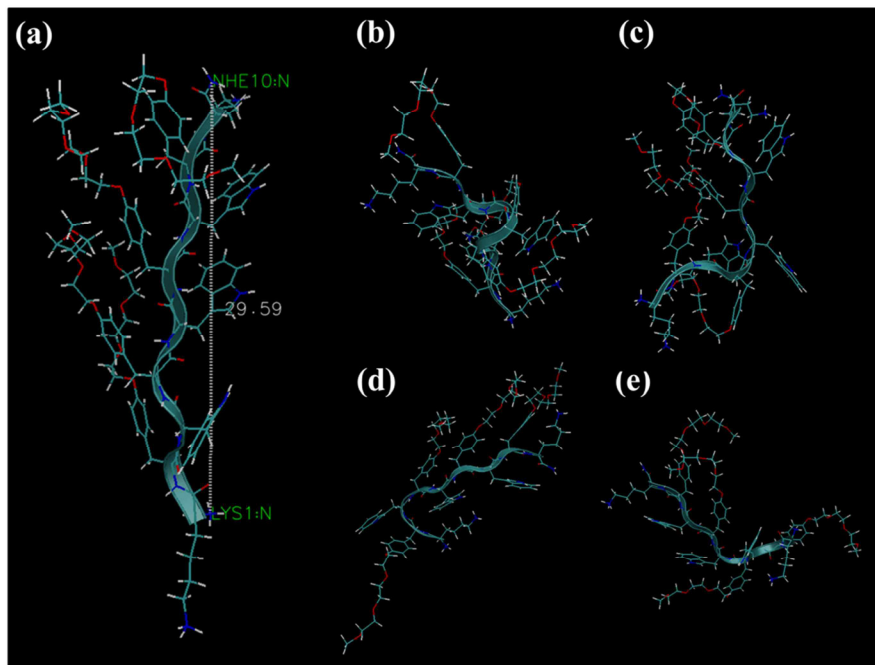


그림 6. 클러스터링 결과로 얻어진 5개의 클러스터의 상대빈도와 구조. (a)-(e) 순서대로 클러스터 1-5에 해당한다. VMD를 통해 시각화하였으며, 탄소 골격은 리본 형태로, 잔기들은 선 형태로 나타나있다.<sup>9</sup>

또한 분자 내 원자단의 배열을 살펴보면 소수성인 트립토판과 친수성인 타이로신 유도체가 같은 종류끼리는 같은 방향으로 배열되어 있으며, 다른 종류끼리는 서로 다른 방향으로 배열된다. 따라서 자기조립의 원동력 중의 하나인 소수성 상호작용을 통해 P1은 1차원적인 성장을 할 수 있는 요건을 가지게 되며, 친수성 머리의 (+) 전하에 의한 정전기적 반발력이 1차원적 구조에 곡률을 형성하여 환상체 형태로의 조립을 유도한다. 이는 Wen Li 그룹에서 예측한 P1의 자기조립 구조가 보이는 특징을 설명하며, 이러한 계산 결과는 P1이 자기조립을 하기에 적합한 구조를 가짐을 분자 수준에서 보여준다. 더불어 P1이 압도적으로 하나의 구조를 보이기 때문에, 특별히 조건을 통제할 필요가 없다는 점에서 자기조립을 위한 단위체로서의 펩티드로 적합하다고 판단할 수 있다.

### 결론

본 연구에서는 Wen Li 그룹이 합성한 펩티드 P1의 자기조립에 대한 적합성을 분자 수준에서 규명하고자 하였다. 이를 위해 복제계-맞바꿈 분자 동역학 시뮬레이션을 이용해 P1의 구조를 샘플링하였고, RMSD를 기준으로 클러스터링하여 매우 우세한 상대빈도를 가지는 하나의 구조를 얻었다. 탄소 골격이 한 방향으로 뻗어있고 소수성인 트립토판이 같은 방향으로 배열되어있다는 점에서 소수성 상호작용을 통한 자기조립에 적합함을 보였다. 또한 친수성 머리의 (+) 전하에 의한 정전기적 반발력을 통해 곡률을 가지므로, 이 점에서 Wen Li 그룹이 합성한 펩티드가 간단한 구조임에도 인공 자기조립 환상체 형성에 활용될 수 있음을 계산을 통해 분자수준에서 규명하였다.

한편 본 연구에는 P1의 자기조립에 대한 적

합성을 판단하기 위해 1개의 P1 분자에 대해서만 계산을 하였지만, 여러 개의 P1 분자를 이용한다면 실제 자기조립 구조의 형성 과정에 대한 정보를 얻을 수 있다. 더불어 수화를 고려함에 있어서 implicit solvation을 사용하였는데, 이로 인해 실제 물 분자의 상호작용이 고려되지 않아 펩티드의 잔기가 바깥쪽으로 퍼지지 않고 한 쪽으로 뭉쳐져 있는 결과가 얻어졌다. 이후 후속 연구에 있어서는 explicit solvation을 사용한다면, 잔기 사이로 물 분자가 들어가 상호작용을 보임에 따라, 잔기가 바깥쪽으로 퍼지면서 전체적으로 부채꼴에 가까운 펩티드의 형태를 얻을 수 있을 것으로 예상된다. 이러한 결과를 이용한다면, P1이 자기조립 된다는 사실뿐만 아니라, 자기조립 나노구조의 형태적인 측면에서도 환상체 형태로 자기조립 된다는 사실을 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 논문은 2015년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 첨단 사이언스·교육 허브 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. NRF-2012-M3C1A6035357)

### 참고문헌

1. Park, I.-S., et al. *Chem.-Asian. J.* **2011**, *6*, 452-458.
2. Wang, Y., et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 16152-16155.
3. Wimley, W. C. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 404-411.
4. Wierenga, R. K. *FEBS Lett.* **2001**, *492*, 193-198.
5. Li, W.; Li, J.; Lee, M. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 8238-8240.

6. Sugita, Y.; Okamoto Y. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *314*, 141-151.
7. Kollman P. A. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 461-469.
8. Onufriev, A.; Bashford, D.; Case, D. A. *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* **2004**, *55*, 383-394.
9. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *J. Molec. Graphics.* **1996**, *14*, 33-38.