

엄길호 성균관대학교 스포츠과학대학 생체역학연구실 교수

| e-mail : kilhoeom@skku.edu

이 글에서는 분자동역학 및 탄성 네트워크 모델 기반 계산과학 기법을 이용하여 단백질의 역학적 거동 해석에 대한 연구를 소개하고자 한다.

단백질은 세포 내에서 또는 세포 외에서 생물학적 기능을 하며, 일부 단백질은 암, 치매 등 다양한 질병 발병에 관여를 한다. 이와 같이 단백질이 생물학적 기능을 수행하거나 질병 발병에 관여를 하는 것은 단백질의 역학적 거동과 연관이 있다. 예를 들면, 신체 내에서 산소 운반에 관여하는 헤모글로빈 단백질은 산소가 결합될 때의 헤모글로빈의 분자구조는 그렇지 않을 때의 분자구조가 다르다. 이는 산소 분자가 헤모글로빈에 결합에 의한 생화학적 자극(biochemical stimuli)이 발생하여 헤모글로빈의 분자구조의 변화(conformational change)를 야기한다. 다른 예로 효소 등에 의해 분해된 단백질 사슬(protein chain) 또는 펩타이드 사슬(peptide chain)이 응집(agggregation)되어 형성된 아밀로이드 섬유(amyloid fibril)는 단백질 소재 중에서 기계적 특성이 매우 우수하다. 구체적으로 아밀로이드 섬유의 탄성계수는 세포막의 탄성계수보다 대략 1만 배 이상 크기 때문에, 아밀로이드 섬유가 세포막 위에서 형성되면 역학적으로 아밀로이드 섬유에 의해 세포막은 붕괴하게 되어 세포 사멸의 결과를 초래한다. 이와 같이, 단백질의 역학적 거동(mechanical behavior) 및 기계적 특성을 규명하는 것은 단백질의 생물학적 기능을 이해하는 것뿐만 아니라, 향후 질병관련 단백질에 의한 질병 치료

및 단백질 기반 생체모방 소재 개발 등 의학, 약학 및 공학 등 다양한 학문 분야에 기여할 것이다.

단백질 분자구조 모델링 기법

2000년대부터 컴퓨팅 기술의 급속한 발전에 의해 단백질의 동적 거동 및 기계적 특성 해석을 위한 다양한 계산과학 기법이 개발되었으며, 현재에는 계산과학으로 단백질의 동적 거동 및 기계적 특성의 정확한 예측이 가능하다. 단백질의 기계적 거동 해석을 위한 계산과학 기법은 단백질의 분자구조에 대한 모델링(modeling) 기법에 기초를 두고 있다. 단백질 분자구조 모델링 기법은 양자역학(quantum mechanics) 모델 수준부터 분자역학(molecular mechanics) 수준까지 다양하다. 이 글에서는 분자수준에서의 모델링 기법에 대해서만 다루고자 한다.

(1) 분자동역학 기법

분자동역학 기법은 단백질 분자구조를 구성하는 모든 원자를 입자(particle)로 가정한 다음에, 입자들 사이의 상호작용 힘(interaction force)을 계산하여 각 원자의 움직임을 아래 뉴턴 운동방정식으로 해석한다.(그림 1A)

$$m_i \ddot{\vec{r}}_i = - \frac{\partial V(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)}{\partial \vec{r}_i} \quad (1)$$

여기서, m_i 와 \vec{r}_i 는 각각 원자 i 의 질량과 위치벡터를 의미하며, $V(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)$ 원자들 사이에 작용하는 상호작용 포텐셜 에너지를 의미한다. 위의 수식 (1)을 수치적으로 적분하여 단백질 분자구조를 구성하는 각 원자들의 움직임을 시간에 대해 구하면, 단백질의 분자구조의 동적 거동을 파악할 수 있다.

1990년대 중반 이후부터 광학집계, 원자힘 현미경 등을 이용한 생체 단분자 실험(single-molecule experiment)을 통해 단백질 등의 생체분자에 역학적 힘을 가해 생체분자의 역학적 거동을 규명하기 시작했다. 이와 같은 실험기법으로 생체분자의 역학적 거동 규명이 가능해졌지만, 역학적 힘에 의한 생체분자의 분자구조의 변화 등 구체적인 메커니즘을 규명하는 데 단분자 실험 기법은 한계가 있다. 이와 같은 실험 기법의 한계를 해결하기 위해, 분자동역학 기법을 단분자 실험 기법을 묘사할 수 있도록 SMD(Steered Molecular Dynamics) 기법을 개발했다(그림 1B). 구체적으로, 광학집계 및 원자힘 현미경 등의 force probe를 탄성 스프링(elastic spring)으로 가정하여, 그 스프링을 생체분자의 끝단의 알파탄소 원자

(alpha carbon atom)에 연결하고 나머지 끝단의 알파탄소 원자는 고정화시킨다. 그 후에, 스프링을 일정한 속도로 인장하여 단백질의 분자구조의 변화를 파악한다. 이 때, 분자동역학 기법의 뉴턴 운동방정식 수식 (1)을 수식 (2)와 같이 수정한다.

$$m_i \ddot{\vec{r}}_i = - \frac{\partial V(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)}{\partial \vec{r}_i} - K(R_{kj} - vt) \quad (2)$$

여기서, K 는 force probe의 강성도(stiffness)를 의미하며, R_{kj} 는 힘을 가한 알파탄소 원자와 고정된 알파탄소 원자 사이의 거리를 나타내며, V 는 단백질을 인장할 때의 속도를 의미한다. 수식 (2)를 통해 생체분자를 일정한 속도로 인장할 때의 생체분자의 분자구조 변화 및 역학적 거동을 파악할 수 있다.

(2) 탄성 네트워크 모델(Elastic Network Model) 분자량이 매우 큰 단백질의 경우, 단백질을 구성하

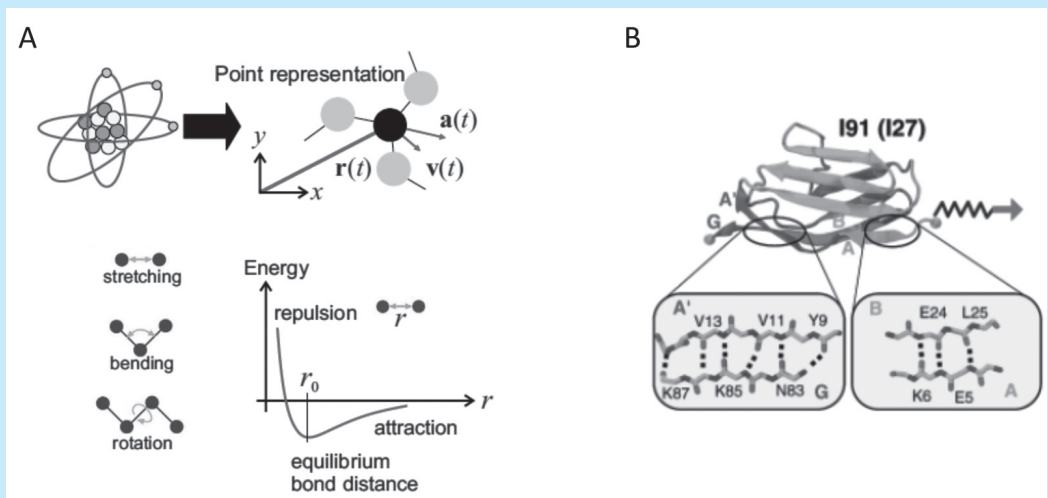


그림 1 (A) (위) : 분자동역학 모식도. 원자를 입자로 가정하여 입자들의 동적 거동을 뉴턴방정식으로 구함. (아래) : 원자들 사이에 작용하는 상호작용 모식도. 왼쪽 그림은 원자들 사이에 공유결합이 형성된 경우의 상호작용 모식도를 나타내며, 오른쪽 그림은 원자들 사이에 작용하는 비공유 결합 에너지 모식도(출처: M. J. Buehler, S. Keten, *Rev. Mod. Phys.* 82, p.1459-1487, 2010), (B) SMD(Steered Molecular Dynamics) 기법 모식도. 단백질의 한 쪽 끝단을 고정시킨 후에, 나머지 한 쪽 끝단은 force probe로 묘사된 스프링에 연결하여 스프링을 일정한 속도로 인장한다. 여기서 고려된 단백질은 근육 단백질 Ig(immunoglobulin) domain임. 확대된 그림은 두 개의 β -strand 사이에 형성된 수소결합 상태를 보여줌(출처: M. Sotomayor, K. Schulten, *Science* 316, p.1144-1148, 2007).

는 원자들의 숫자가 수억에서 수십억에 이르기 때문에, 분자동역학 기법으로 해석하는 데 수치적인 한계가 있다. 구체적으로, 분자량이 큰 단백질의 동적 거동 분석을 위해서는 최소 수백 나노초에서 수 마이크로초까지의 시간에 대해 단백질을 구성하는 모든 원자들의 동적 움직임을 파악해야 한다. 이와 같은 분자동역학의 수치적 한계로 인해 원자모델보다 단순화된 coarse-grain 모델을 개발하였다. 구체적으로, 단백질의 동적 거동은 단백질의 분자구조를 지지하는 수소결합 네트워크(hydrogen bond network)에 의해 결정되기 때문에, 단백질의 분자구조를 알파탄소 원자들 사이의 수소결합 형성 여부에 따른 스프링 네트워크(spring network)로 모델링한다. 이와 같은 모델링 기법을 탄성 네트워크 모델이라 하며, 탄성 네트워크 모델은 1996년 Tirion에 의해 처음 제시되면서부터 단백질 분자구조의 동적 거동, 특히 단백질 구조의 변화에 관여하는 저주파 모드 해석에 응용되고 있다.

단백질 분자구조를 탄성 네트워크 모델로 묘사하는 경우, 단백질의 분자구조의 뼈대(backbone)를 구성하는 알파 탄소 원자를 입자로 가정한 후에, 입자들 사이의 작용하는 상호작용을 탄성 스프링으로 대체한다. 구체적으로 탄성 네트워크 모델의 포텐셜 에너지는 수식 (3)과 같다.

$$V = \frac{\gamma}{2} \sum_{ij} (R_{ij} - R_{ij}^0)^2 H(R_c - R_{ij}^0) \quad (3)$$

여기서, R_{ij} 는 알파탄소 원자 i 와 j 사이의 거리를 의미하며, 위첨자 0은 평형상태(equilibrium state)를 의미하며, γ 는 스프링의 탄성계수(stiffness)를 의미하며, R_c 는 cut-off distance로 알파탄소 원자 사이의 상호작용을 정의하는 거리를 의미한다. 단백질 분자구조의 진동 특성은 수식 (4)와 같이 고유치 문제(eigenvalue problem)로 해석될 수 있다.

$$Ku = Mw^2u \quad (4)$$

여기서, K 는 탄성 네트워크의 강성계수 행렬(stiffness matrix)을 의미하며, M 은 알파탄소 원자의 원자량을 나타내며, w 는 단백질 구조의 고유진동수(natural frequency)이며, u 는 단백질 구조 변형에 관여하는 고유모드(eigen-mode)를 의미한다. 이때, 강성계수 행렬은 위의 수식 (3)의 포텐셜 에너지를 이용하여 수식 (5)와 같이 구할 수 있다.

$$K = \frac{\partial^2 V(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_N)}{\partial \vec{r}_i \partial \vec{r}_j} \quad (5)$$

수식 (4)를 이용하여 단백질 분자구조에 대한 고유치문제를 풀어, 단백질 분자구조의 저주파 모드 및 fluctuation 거동을 분석할 수 있다.

단백질 구조의 역학적 거동 연구 사례

여기서는 간략하게 위에서 언급된 분자동역학 기법 및 탄성 네트워크 모델링 기법으로 단백질의 역학적 거동을 해석한 연구 사례를 소개한다. 분자동역학 기법 및 탄성 네트워크 모델링 기법으로 단백질 등 생체분자의 역학적 거동에 대한 많은 연구가 있지만, 본문에서는 아밀로이드 단백질 섬유화의 역학적 거동 해석에 대한 연구만 살펴보고자 한다.

(1) 아밀로이드 단백질 섬유의 굽힘 거동 해석

앞에서 언급한 바와 같이, 아밀로이드 단백질 섬유는 탄성계수 등 기계적 특성이 우수하며, 아밀로이드 섬유의 우수한 기계적 특성은 세포 사멸 등의 생물학적 기능에 중요한 요소가 된다. 아밀로이드 단백질 섬유의 기계적 변형(mechanical deformation) 및 탄성특성을 파악하고자 SMD(Steered Molecular Dynamics) 기법으로, 아밀로이드 단백질 섬유의 길이 따른 기계적 변형 거동 및 탄성 특성을 파악하였다. 구체적으로, 아밀로이드 단백질 섬유의 양쪽 끝단을 고정된 후에, 아밀로이드 단백질 섬유의 중앙에 위

치한 β -strand를 인장하였다(그림 2A). SMD (Steered Molecular Dynamics) 계산 결과를 통해, 아밀로이드 섬유의 길이가 대략 2~3nm인 경우, 아밀로이드 섬유의 기계적 변형 거동은 전단 변형 (shear deformation)임을 알 수 있다. 반면에, 아밀로이드 섬유의 길이가 8nm 이상인 경우에는 아밀로이드 섬유의 변형 거동은 굽힘 변형(bending deformation)임을 알 수 있다(그림 2A). 또한, 아밀로이드 섬유의 강성계수(stiffness)가 아밀로이드 섬유의 길이에 따라 작아지는 것을 알 수 있다(그림 2B). 이와 같이 아밀로이드 섬유의 길이와 강성계수(k)와의 연관성을 Timoshenko beam 이론을 이용하여 수식 (6)과 같이 파악하였다.

$$k = \frac{D}{L^3} \left(1 + \frac{a}{b} \frac{cD}{G_s A L^2} \right)^{-1} \quad (6)$$

여기서, G_s , D , L , A 는 각각 아밀로이드 섬유의 전단 계수(shear modulus), 굽힘 강성도(bending rigidity), 길이, 단면적을 의미하며, a 와 b 는 각각 경계조건(boundary condition)과 관련된 상수이며, c 는 아밀로이드 섬유의 단면 모양에 대한 상수이다. 수식 (6)을 통해 계산된 결과는 hIAPP(human islet amyloid polypeptide) 아밀로이드 섬유의 굽힘 강성도는 $7.73 \times 10^{-26} \text{ Nm}^2$ 이며, 전단계수는 5.79 GPa이다.

(2) 탄성 네트워크 모델 기반 아밀

로이드 섬유의 기계적 특성 규명

아밀로이드 섬유의 진동 특성 및 기계적 특성 규명을 그림 3과 같이 탄성 네트워크 모델을 이용하여 규명하였다. 그림 3A에서 보여주는 바와 같이 아밀로이드 섬유는 1차원 beam 모델처럼 저주파 모드는 굽힘 모드(bending mode), 비틀림 모드(twisting mode) 및 인장 모드(stretching mode)로 구분된다. 구체적으로 아밀로이드 섬유의 고유진동수가 제일 낮은 저주파 모드는 굽힘 모드에 해당되며, 그 다음 모드는 비틀림 모드, 인장 모드 순으로 나타난다(그림 3B). 길이가 17.045nm인 hIAPP 아밀로이드 섬유의 고유진동수는 대략 1~2THz 정도가 된다. 아밀로이드 섬유의 고유진동수는 아밀로이드 섬유의 질량과 탄성계수에 의해 결정되기 때문에, 1차원 beam 모델을 이용하여 아밀로이드 섬유의 고유진동수를 통해 아밀로이드 섬유의 탄성계수를 계산할 수 있다. 그림 3C에서 보여주는 바와 같이, 아밀로이드 섬유의 굽힘 강성도(bending rigidity)는 아밀로이드 길이에 따라 $0.45 \times 10^{-26} \text{ Nm}^2$ 에서 $0.8 \times 10^{-26} \text{ Nm}^2$ 정도의 값으로 변한다. 이때 아밀로이드 섬유의 길이에 따른 굽힘 강성도의

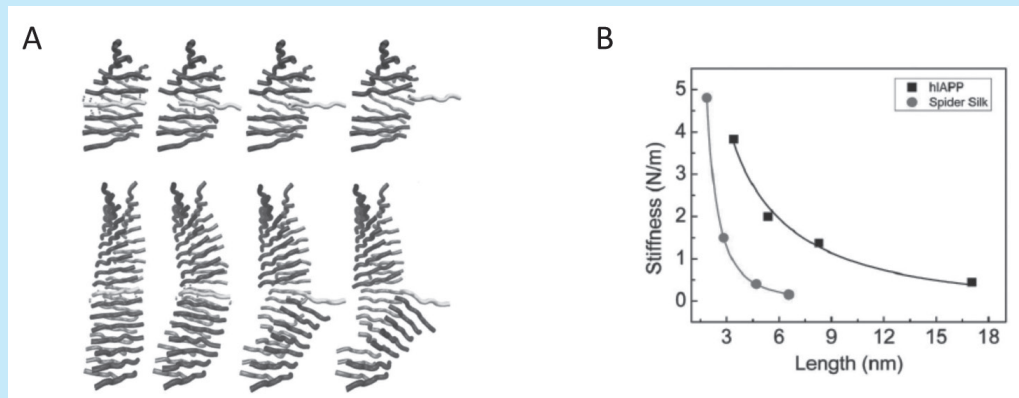


그림 2 SMD(Steered Molecular Dynamics) 계산 기법을 이용한 아밀로이드 단백질 섬유의 기계적 변형 거동 분석 : (A) 아밀로이드 단백질 섬유의 길이에 따른 기계적 변형 메커니즘(mechanical deformation mechanism). (위) : 아밀로이드 섬유의 길이가 3.41nm일 때의 변형 거동. (아래) : 아밀로이드 섬유의 길이가 8.28nm일 때의 변형 거동, (B) 아밀로이드 섬유의 길이에 따른 강성도(stiffness) 값(검은색). 여기서 검은 색 점은 SMD 계산 결과를 의미하며, 검은색 실선은 Timoshenko beam 이론으로 예측된 결과를 나타냄. 빨간 색으로 표시된 결과는 거미줄(spider silk) 단백질 크리스탈(crystal)의 굽힘 거동에 대한 것임(출처: B. Choi, G. Yoon, S.W. Lee, K. Eom, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, p.1379-1389, 2015).

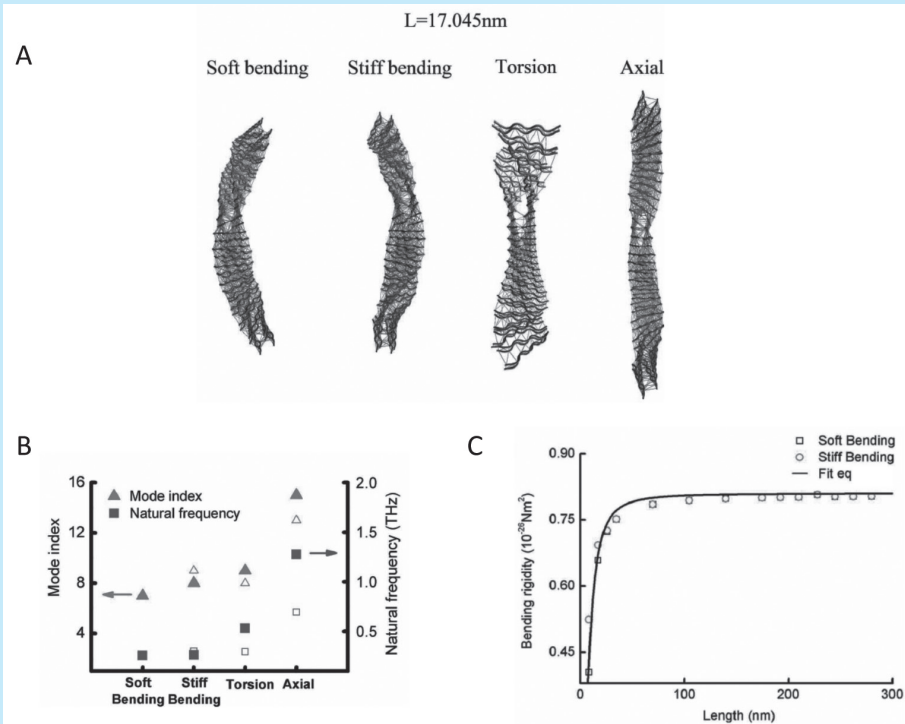


그림 3 탄성 네트워크 모델 기반 아밀로이드 섬유의 진동 특성 및 기계적 특성 규명 : (A) 아밀로이드 섬유의 저주파 변형 모드: 굽힘 모드, 비틀림 모드 및 인장 모드, (B) 아밀로이드 섬유의 각 저주파 변형 모드에 대한 고유진동수 특성 및 모드 인덱스(mode index), (C) 탄성 네트워크 모델로 예측된 아밀로이드 섬유의 고유진동수를 통해 계산된 아밀로이드 섬유의 굽힘 강성도(출처: G. Yoon, J. Kwak, J.I. Kim, S. Na, K. Eom, *Adv. Funct. Mater.* 21, p.3454–3463, 2011).

특성을 앞에서 언급된 Timoshenko beam 이론으로 파악할 수 있다. 구체적으로 Timoshenko beam 이론으로 예측된 hIAPP 아밀로이드 섬유의 전단계수는 1.1GPa로 계산된다(그림 3C). 앞에서 SMD 계산 기법으로 예측된 전단계수 값과는 차이가 있는데, 이는 SMD 기반 분자동역학 기법에서는 인장할 때의 속도(rate)에 따른 인장변형 거동의 변화가 있는 반면에, 탄성 네트워크 모델에서는 변형 거동에 영향을 미치는 속도(rate) 효과를 고려하지 않기 때문이다.

맺음말

이 글에서 분자수준의 모델링 기법을 이용하여 단

백질의 생물학적 기능에 관여하는 단백질 소재의 역학적 거동을 규명한 연구에 대해 살펴보았다. 구체적으로, 다양한 단백질 소재 중에서 아밀로이드 섬유의 기계적 변형 및 기계적 특성 규명에 대한 연구에 대해 논의하였다. 생물학적 기능을 결정하는 단백질의 기계적 거동 및 특성에 대한 연구뿐만 아니라, 단백질 기반 생체모방소재(biomimetic material) 설계 등에 분자수준의 모델링 기법(예: 분자동역학 및 탄성 네트워크 모델 등)이 매우 중요한 역할을 할 것이다.

구체적으로 아밀로이드 섬유와 같이 기계적 특성이 우수한 β -sheet 기반의 단백질 소재를 설계하는데 분자동역학 기반 모델링 기법이 필수적으로 활용되어야 한다. 이와 같이 향후 단백질 등의 생체분자의 생물학적 기능에 연관된 역학적 거동(mechanical behavior)과 단백질 기반 생체모방소재 개발에 요구되는 분자동역학 및 탄성 네트워크 모델 등 다양한 분자수준의 모델링 기법은 향후 나노-바이오 역학에 중요한 계산 기법으로 자리매김할 것이다.