

Surface Interactions of Model Peptides for Mussel Adhesive Protein

Eunkyung Cho, Yoon-Hee Lee, Namjun Cho*, and Hyung Joon Cha¹

Dept. of Applied Chemical Engineering Korea Univ. of Tech. & Edu.

¹Dept. of Chem. Eng. & Div. of Molecular. & Life Sci. Pohang Univ. of Sci. & Tech. Tel :
+82-41-560-1342 , FAX : +82-41-560-1124 (조남준)

ABSTRACT

The mussel adhesive protein Mefp-1 is a natural, strong and durable adhesive that is stable under corrosive, saline conditions. Mefp-1 is found in the marine mussel *Mytilus edulis* and it has a molecular weight of ca. 130,000. The primary structure is mainly composed of repeating decapeptides: Ala-Lys-Pro^{*}-Ser-Tyr^{*}-Hyp-Hyp-Thr-DOPA-Lys.¹⁾ To elucidate the mechanism by which Mefp-1 bonds to metal surfaces, we have used surface-enhanced Raman spectroscopy to study the interactions of peptides related to the Mefp-1 decapeptide repeat with gold surfaces. We have concluded that the tyrosine residue and the carboxyl terminus interact strongly with the gold surface, and that proline and hydroxyproline constrain the conformations of the peptides, thereby limiting the types of possible interactions of the functional groups with the gold surface.

서 론

홍합의 접착성 단백질의 접착 메카니즘은 아직까지 알려져 있지 않고 있지만, 이 단백질은 수중의 환경에서도 화학적으로 안정하게 접착할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이 물질의 접착 메카니즘에 대한 분자수준의 이해는 implanted material 나 device의 생체 내 고정 및 설치 또는 수술용 접착제는 물론 수중접착제의 분자 설계, 금속의 부식 방지를 위한 신소재 개발 등에 중요한 역할을 할 수 있다²⁾. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS)는 표면연구 또는 계면의 상호작용에 대해 분자수준에서 연구하는데 많이 이용되고 있다. Ag와 Au 등 비활성 금속의 콜로이드 또는 울퉁불퉁한 표면의 전자가 적절한 파장의 복사선에 의해 들뜨게

되면 금속 표면 주위에 매우 큰 비등방성 전기장이 형성되어 표면증강라만(SER) 효과가 발생한다. 표면에 흡착한 분자는 이 전기장과 상호 작용하여 라만 봉우리의 세기가 약 10^6 정도 증가한다. 그러나 이 전기장은 표면에 대해 수직방향이 수평방향보다 10배가량 강하며³⁾, 이로 인해 표면에 흡착된 분자의 배향에 대한 정보를 얻게 된다. 또한 흡착한 분자의 진동 주파수의 변화로부터 분자의 작용기가 표면과 상호 작용하는 정도를 알 수 있다. 본 연구에서는 Mefp-1의 model peptide 들을 합성하여 각 구성 작용기들의 접착특성을 조사하였다.

재료 및 방법

Mefp-1을 구성하는 model peptide인 PSY, AKPSY, AKGSY 등은 PE Biosystems사에서 FMoc-amino acid들을 구입하여 Solid-Phase FMoc Peptide Synthesis를 이용하여 합성하였고, 미반응물이나 불순물을 제거하기 위해 Prep용 C18-Radial-Pak HPLC 컬럼을 이용하여 분리 정제하였다. Mefp-1의 표면 접착 특성을 이해하기 위해 접착 기질로는 gold colloid를 사용하였고, 735nm의 레이저 파장을 사용하여 Raman 및 SERS 스펙트럼을 조사하였다.

결과 및 고찰

그림 1에서 보는 바와 같이 AKPSY의 Raman 스펙트럼은 Tyr의 825, 846, 1176, 1207, 1250, 1598, 1614 cm^{-1} 등의 ring 진동 mode와 1435 cm^{-1} 의 methylene deformation band의 세기가 강하다. 그러나 Au 표면에 흡착된 SERS의 경우, 카르복실기와 관련된 1391, 990, 786 cm^{-1} 와 Tyr ring 진동 mode인 1176, 1207, 1580, 1605 cm^{-1} 의 봉우리 세기가 크게 증강된다. 특히 카르복실기의 대칭신축에 해당하는 봉우리는 1405 cm^{-1} 에서 1391 cm^{-1} 로 약 15 cm^{-1} 가량 frequency의 감소를 보인다. 또한 ν_{8a} 및 ν_{8b} 에 해당하는 1614 및 1598 cm^{-1} 의 봉우리는 각각 9 cm^{-1} 및 18 cm^{-1} 의 주파수의 감소를 보인다. 이러한 큰 진동수의 감소는 표면에 흡착된 hydroxyl 작용기가 deprotonation 되었음을 시사한다.⁴⁾ 또한, Tyr의 ring C-H의 신축 진동에 해당하는 3062 cm^{-1} 봉우리가 증강되는 것으로 보아 Tyr의 ring이 기질 표면에 약간의 경사를 가진 수직 배향을 하고 있는 것으로 추정된다.⁵⁾ PSY의 SERS는 AKPSY와 거의 동일하다. 이것은 AKPSY에서 AK 잔기들이 표면에서 멀리 떨

어져 있음을 의미한다. 이는 Pro 잔기의 conformational constraint의 작용 때문이라 추정된다. 결국 AKPSY의 경우 카르복실 말단기와 Tyr의 -OH기가 표면흡착에 주요 역할을 하는 것으로 생각된다.

AKPSY 모델 펩타이드에서 Pro의 구조적 기능을 확인하기 위하여 Pro를 Gly로 대체하여 AKGSY를 AKPSY 및 AK의 SERS와 비교 측정하였다. AKGSY의 SERS에서는 카르복실기와 Tyr ring의 신축진동에 해당하는 peak들이 크게 감소하면서 AK부분의 A와 K 아미노산기와 관련된 C-C 신축진동에 해당하는 봉우리들이 800 ~ 950 cm^{-1} 에서 나타난다. 이는 Pro가 결여된 AKGSY에서 Pro기의 conformational constraint가 사라지면서 표면에의 흡착양상이 변화되었음을 의미하며, Tyr과 carboxyl기의 흡착기능이 저하되었음을 시사한다. 이러한 결과를 토대로 Mefp-1에서 높은 빈도로 나타나는 Pro는 홍합의 접착성 단백질이 기질 표면에 접착 시, 접착에 유리한 구조를 유지하도록 하는 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다.

결 론

Raman 과 SERS를 사용하여 gold colloid 표면에 흡착한 AKPSY, PSY, AKGSY 및 AK 등 Mefp-1 모델 펩타이드의 표면 흡착 특성을 조사하였다. 카르복실기와 Tyr의 hydroxyl기는 표면 흡착에 중요역할을 하며, 이 두 작용기의 hydroxyl기는Au 표면에 흡착되었을 때 deprotonation 되는 것으로 나타났다. 특히 카르복실기의 대칭신축 봉우리가 크게 증강되는 것으로 보아, 이 작용기의 두 산소원자는 gold 표면에 bidentate chelation을 하는 것으로 추정된다. AKGSY와 AKPSY의 비교조사를 통해 Pro는 AKPSY의 Tyr와 carboxyl기가 이들의 표면과 상호 작용을 하는데 유리한 구조를 유지하는 역할을 하는 것으로 보인다. 일반적으로 Pro residue는 단백질의 2차 및 3차 구조를 유지시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, Mefp-1의 단백질에서 높은 빈도로 나타나는 Pro기는 이 단백질의 구조를 접착에 유리하도록 유지하는데 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다⁶⁾.

References

1. Waite, J. H., Tanzer, M. L. (1981), *Science* **212**, 1038.
2. Crisp, D. J., Walker, G., Young, G. A. E., Yale A. B. (1985), *J. Coll. Interf. Sci.* **104**, 40.
3. Herne, T. M., Ahern, A. M., Garrel, R. L. (1991), *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 846.

4. Kneipp, K., Wang, Y., Kneipp, H., Itakan, I., Dasari, R. R., Fied, M. S. (1996), *Phys. Rev. Lett.* **76**, 2444.
5. M. Moskovits and J. S. Suh (1998), *J. Phys. Chem.* **92**, 6327.
6. Dollish, F. R., Fateley, W. G., Bentley, F. F. (1974), *Characteristic Raman Frequencies of Organic Compounds*; Wiley: New York.

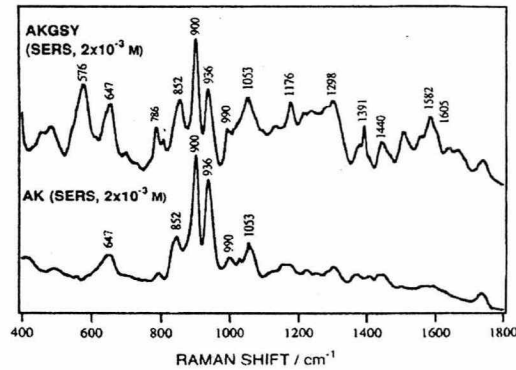


그림 1. Gold 콜로이드에 흡착된 AKGSY와 AK의 SERS 스펙트럼.

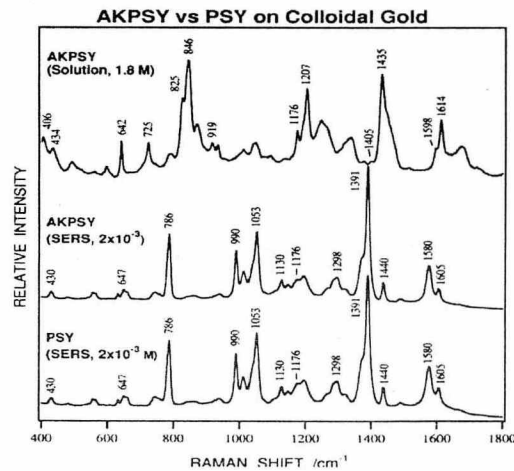


그림 2. Gold 콜로이드에 흡착한 AKPSY와 PSY의 SERS 및 AKPSY의 Raman 스펙트럼.