

생체분자들에 대한 분자동역학 시뮬레이션



글 · 송진수 / KIST 생체대사연구센터, 박사과정
 e-mail · jssong@kist.re.kr
 문태성 / (주)나노믹스 부설연구원, 책임연구원
 윤창노 / KIST 생체대사연구센터, 책임연구원

이 글에서는 분자동역학 시뮬레이션에 대한 이론을 간략히 설명하고, 생체분자에서 연구되고 있는 다양한 적용 사례를 살펴봄으로써 분자동역학 시뮬레이션의 응용범위를 이해하고자 한다.

분자 시뮬레이션 기법인 분자동역학 시뮬레이션(molecular dynamics simulation)은 1950년대 말 분자시스템의 동역학적 성질 등을 이해하고자 Alder와 Wainwright⁽¹⁾에 의하여 분자간의 탄성충돌을 모델로 하는 강구(hard-sphere)시스템에 처음 적용되었으며 1960년대에는 연구(soft-sphere) 모델의 하나인 Lennard-Jones 분자에 대한 분자동역학 시뮬레이션이 수행되었다. 이러한 연구로부터 간단한 용매에 대한 많은 관심이 있었으며 1964년 Rahman⁽²⁾이 아르곤 용매에 대한 실질적인 포텐셜을 사용함으로써 첫 번째 시뮬레이션을 수행하게 된다. 1970년대 중반 이후에 이르러서야 비로소 컴퓨터의 발달에 힘입어 물리 및 화학분야에서 광범위하게 응용되기 시작하였다. 분자동역학을 사용한, 생체분자에 대한 첫 번째 시뮬레이션은 BPTI(Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor)에 대하여 1977년 McCammon⁽³⁾에 의하여 수행되었다. 그 후, 1983년에 Levitt⁽⁴⁾은 60ps BPTI 시뮬레이션에서 구조의 변화를 보고하였다. 1988년에 용액안의 동일 단백질에 대한 210ps 시뮬레이션이 보고되었으며⁽⁵⁾, 그 후 시뮬레이션의 시간과 시스템의 상당한 증가가 있었다. 1995년에는 chymotrypsin inhibitor-2에 대하여

5.3ns 동안 용액상의 시뮬레이션의 수행과 Daggett의 실험적 결과와의 비교를 보고하였다⁽⁶⁾. 1998년 Duan과 Kollman⁽⁷⁾에 의한 villin headpiece(36-residue peptide)에 대한 1 μ s 시뮬레이션이 수행되었다(그림 1). 컴퓨팅 파워가 증가함에 따라 최근에는 용액 상에서의 생체분자(단백질, 핵산, 단백질-핵산 복합체 등) 또는 생체막 단백질에 대한 nanosecond 수준의 시뮬레이션이 수행되고 있다. 분자동역학 시뮬

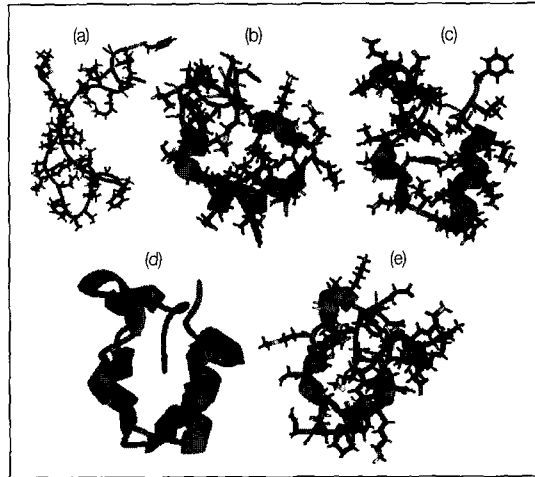
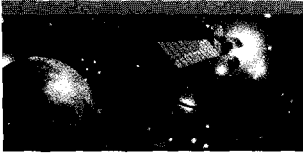


그림 1 villin headpiece 단백질(36-아미노산 잔기)에 대한 1 μ s 시뮬레이션, (a) 펼친(unfolded), 구조, (b) 980 ns에서의 부분적으로 접힌(partially folded)구조, (c) 천연구조(native structures), (d) 천연구조(적색)와 가장 안정한 군집을 표현한 구조(청색)를 겹쳐 놓은 그림⁽⁶⁾ (e) 가장 안정한 군집(most stable cluster)을 표현한 구조



레이션 방법의 종류도 상당한 수에 이르렀으며, 단백질들은 일반적으로 뉴턴방정식을 이용한 고전적 모델링 방법들을 사용하여 연구되고 있다. 그러나 효소의 활성 부위와 같은 협소(local)한 지역에 대한 많은 양자역학적 연구들도 보고되고 있으며, 최근에는 양자역학과 고전역학(QM/MM) 방법을 혼합하여 시뮬레이션을 수행하기도 한다. 단백질을 시뮬레이션하기 위하여 사용되는 많은 파라미터(parameters)들은 소립자에서의 실험적 그리고 양자역학적인 결과에 기초하며, 거대 생체 분자들에 대하여 적용되어 최적화함으로써 얻어진다. 이렇게 얻은 파라미터를 포텐셜 함수(potential function) 또는 역장(force field)이라 한다. 이들 포텐셜 함수 또는 역장은 여러 과학자들에 의해 고안되었는데 많이 사용하는 포텐셜 함수으로는 MM2, MM3, AMBER, CHARMM, ECEPP, CVFF 등이 있다. 이들 포텐셜 함수들은 그 특성이 각각 다르기 때문에 취급하는 시스템에 따라 알맞은 것을 골라 사용해야 하며 나름대로의 장단점을 가지고 있지만 기본꼴에 있어서는 아래의 식과 같은 형태를 갖는다.

$$\begin{aligned}
 E_{pot} &= E_{bond} + E_{bend} + E_{torsion} + \sim E_{nonbonded} \\
 &= \sum k(b-b_0)^2 + \sum k(\theta-\theta_0)^2 + \sum (1+\cos(n\phi)) \\
 &\quad + \sum \left(\frac{1}{r} + \frac{A_{ij}}{r^{12}} + \frac{B_{ij}}{r^6} \right) \quad (1)
 \end{aligned}$$

이와 같은 포텐셜 함수를 사용하여 분자의 총에너지를 계산할 수 있고 원자의 상호작용 에너지 및 힘을 계산할 수 있게 된다. 분자내의 원자들의 움직임은 Verlet 알고리즘을 이용하여 궤적(trajecory)을 계산함으로써 시뮬레이션할 수 있게 된다. 즉

시간이 t일 때 그 때부터 시간이 경과한 후의 한 원자의 위치는 식 (2)처럼 정의된다.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \frac{d}{dt}r(t)\Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2}{dt^2}r(t)\Delta t^2 + \dots \quad (2)$$

여기에서 Δt 가 매우 작다면 식 (3)과 같이 식을 간략화 시킬 수 있다.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \frac{d}{dt}r(t)\Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2}{dt^2}r(t)\Delta t^2 \quad (3)$$

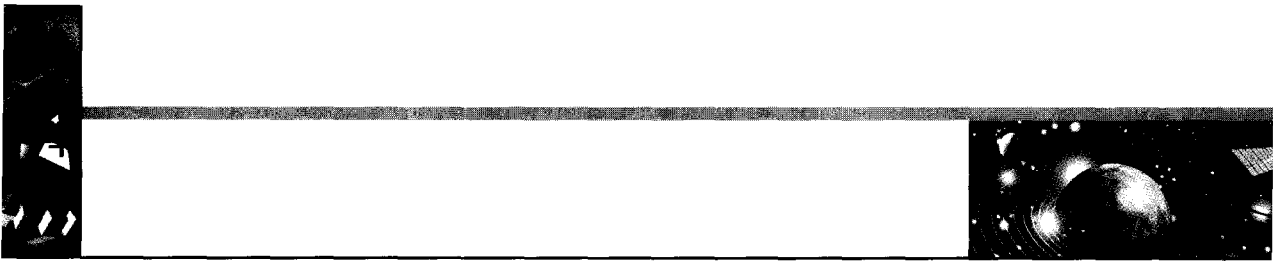
이 식에 Newton 역학을 도입하여 식을 다시 정리하면 식 (4)와 같다.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2!} \frac{F}{m}\Delta t^2 \quad (4)$$

$$\left(\frac{d}{dt}r(t) = v(t) \text{ and } \frac{d^2}{dt^2}r(t) = a = -\frac{F}{m} \right)$$

여기에서 원자가 움직이는 초기속도는 Maxwell-Boltzmann 방정식을 풀어서 구할 수 있고 원자-원자 간의 상호작용(interaction)은 포텐셜 함수에서 얻을 수 있다. 따라서 실제 분자가 움직이는 모습을 계산해낼 수 있고 그렇게 하여 구해진 좌표를 컴퓨터 그래픽 기법을 사용하여 눈으로 확인 가능하다.

일반적으로 거대 분자인 단백질은 광범위한 분야에서의 특수한 운동들을 한다. 이들의 범위는 원자의 극소 위치에서의 빠른 운동들에서부터 폴딩(folding transition)과 같은 느리며, 오랜 기간이 소요되는 운동 등이 있다. 많은 이들 운동들은 단백질의 생물학적 기능에 있어서 중요한 규칙을 갖고 있다. 예를 들면, 국부위치에 존재하는 측면체인(side-chain)의 운동은 헤모글로빈(hemoglobin)에서 산소의 유입과 방출에 대한 분산을 조절한다⁽⁶⁾. 조금 확장된, 중간 단계에서의 구조적 전이는 효과적인 전송을 일으키는 헤모글로빈 R-Form



에서 T-Form으로의 알로스테릭 전이(allosteric transition)가 있다⁽⁸⁾. 프리온(prion) 단백질은 생물학적으로 중요한 특성을 보이는 전체 구조상의 전이(α -helical 구조에서 β -sheet 구조로의 전이)가 존재하며, 소에서의 광우병과 인간에서의 크로이츠펠트-야콥병(CJD : Creutzfeldt-Jacob Disease)을 일으킨다⁽⁹⁾. 표 1에는 단백질에서

운동의 형태	기능 (functionality)	소요시간과 진위 규모 (amplitude scales)
국부적 운동(Local motions) 원자적 요동(Atomic fluctuation) 측쇄운동(Side-chain motion)	리간드-도킹의 유연성 (Ligand docking flexibility) 일시적 확산 경로 (Temporal diffusion pathways)	femtoseconds (fs) to picoseconds (ps) (10^{-15} - 10^{-12} s); less than 1Å
중간급 운동(Medium-scale motions) 고리운동(Loop motion) 종축운동(Terminal-arm motion) 강체운동(Rigid-body motion)	활성부의 구조의 적응 (Active site conformation adaptation) 결합의 특이성 (Binding specificity)	nanoseconds (ns) to microseconds (μ s) (10^{-9} - 10^{-6} s); 1-5Å
대규모 운동(Large-scale motions) 도메인 운동(Domain motion) 소단위 체운동(Subunit motion)	접합-휨 운동 (Hinge-bending motion) 알로스테릭 전이 (Allosteric transitions)	microseconds (μ s) to milliseconds (ms) (10^{-6} - 10^{-3} s); 5-10Å
전역적 운동(Global motions) 나선-코일 전이(Helix-coil transition) 접합-펼침(Folding-unfolding) 소단위체결합(Subunit association)	호르몬 활성화 (Hormone activation) 단백질 기능 (Protein functionality)	milliseconds (ms) to hours (10^{-3} - 10^0 s); (more than 10Å)

발생하는 운동의 다양한 형태들을 보여 주고 있다. 생체분자 운동의 중요한 특성은 다양한 형태의 운동들이 상호의존하고 있으며 서로 다른 운동의 형태들과 혼합되어 있다는 것이다. 동역학적 시뮬레이션의 관점에서 이러한 상황은 중요한 의미를 내포하고 있다. 생물학적으로 중요한, 느리고 커다란 수준(slow large-scale)에서의 연구는 빠르고 작은 수준(fast small-scale)에서의 운동을 무시하고는 가능하지 않다.

컴퓨터를 이용한 분자동역학 시뮬레이션은 광범위한 분야의 생체분자를 대상으로 연구되고 있다. 계산 가능한 시간범위(timescale)의 증가와 같은 상당한 진보 때문에 생체막(biological membrane)들과 관련된 단백질들(lipid-protein, lipid-DNA)에 대한 복잡한 시뮬레이션이 가능하게 되었으며, 이에 대한 관심이 점점 증가하고 있다. 이러한 연구는 Forrest와 Sansom⁽¹⁰⁾에 의하여 세포막과 소수성 약

물 분자의 상호작용을 연구하기 위하여 사용되고 있으며, 콜레스테롤이 포함된 세포막에서의 막/물의 경계면(membrane-water interface)에 대한 구조적, 그리고 전기적 성질의 변화를 보고하고 있다⁽¹¹⁾. 7-transmembrane 단백질인 bacteriorhodopsin에 대한 연구는 세포막 내에서의 helix들의 행동을 연구하고자 Woolf⁽¹²⁾에 의하여 수행되었다. 또 다른 채널(channel) 시스템에 대한 연구는 M2 단백질(인플루엔자-A)의 transmembrane 부분에 대한 4ns 동안의 시뮬레이션을 통하여, His-37 잔기에 의하여 폐색된 깔때기형(funnel-like) 구조가 protonation에 의하여 개방된 채널을 형성함을 Newns⁽¹³⁾는 보고하였으며, 이러한 결과는 NMR 실험과 일치하는 결과로서, 바이러스 단백질에 의하여 형성되는 이온채널에 대한 모델로서 사용할 수 있다⁽¹⁴⁾. 분자동역학 시뮬레이션에 의하여 연구되어진 다른 이온 채널들은

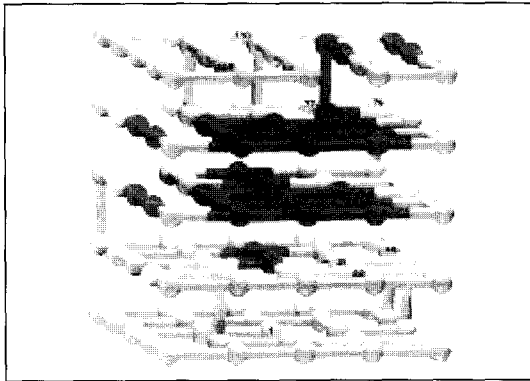
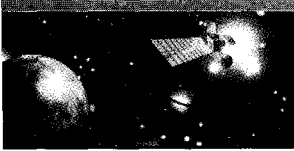


그림 2 Lysozyme(125-아미노산 잔기들)에 대한 격자 모델⁽²⁸⁾.

HIV-1 Vpu transmembrane 영역⁽¹⁵⁾, 니코틴 아세틸콜린 수용체의 M2⁽¹⁶⁾, bacterial porin OmpF⁽¹⁷⁾, bacterial K⁺ channel KcsA⁽¹⁸⁾ 등이 있다. 분자동역학 시뮬레이션이 사용되었던 또 다른 영역은 신약 개발에서 중요한 리간드와 수용체에 대한 상호작용의 연구이다. NADPH와 quinone acceptor oxidoreductase(DT-diaphorase)의 상호작용은 분자동역학 시뮬레이션을 사용하여 모델링 되었으며, DT-diaphorase 효소는 종양(tumor)에서 증가된 농도를 보이며 agonist(substrate-like 분자)들의 결합능력을 테스트하는데 사용되고 있다⁽¹⁹⁾. Nitrogen mustard 약물과 세포 내 이온 조절 단백질인 metallothionein의 결합에 대한 상호작용의 연구는 가능한 결합위치를 판단하기 위하여 세 가지 약물에 대한 궤적(trajec-tories)의 순열(series)들의 연구를 통하여 실험적 결과와 일치하는 결과를 Szilagyi와 Fenselau는 보고⁽²⁰⁾하고 있다. 현재 AIDS 치료의 주요 대상인 HIV-1 protease와 약물의 결합에 대한

연구는 docking과 분자동역학 시뮬레이션에 의하여 수행되고 있으며⁽²¹⁾, HIV-1 protease inhibitor들의 개발에 필요한 중요한 상호작용의 정보를 제공하고 있다⁽²²⁾. 분자동역학은 생약연구에 있어서 중요한 uncomplexed 분자들에 대하여도 수행되고 있으며, neurotransmitter들의 간단한 peptide들에서부터 viral capsid 단백질들인 complex protein assemblage들까지 그 범위가 다양하다. 세포분화와 apoptosis(cell death)의 조절자로서 상당히 중요한 p53 단백질은 그들의 돌연변이체가 Human cancers의 50% 정도에서 발견되고 있다. p53 돌연변이(residue 143: Val to Ala, residue 268: Asn to Asp) 단백질은 구조적 불안정을 유발하여 DNA와의 결합을 저해하는 것으로 보고하고 있다⁽²⁴⁾.

In vivo(생체 내)에서의 단백질 폴딩(folding)은 1ms에서 몇 ms의 시간이 소요되는 과정^(25, 26)으로서 컴퓨팅 파워의 한계로 ns 수준의 시뮬레이션만 가능하며, 단백질 folding에 대한 원자 수준에서의 ms 수준의 시뮬레이션은 곤란하다. 단백질 folding에 대한 연구의 예로서, 실험적으로 빠른 폴딩 속도를 보이는 small model peptide에 대한 연구와 lattice와 off-lattice 모델을 사용한 연구 등이 있다. 격자(lattice) 모델들은 단백질들의 자유도수의 감소(50개의 잔기를 갖는 단백질에서 200개의 자유도)를 위하여 도입되었다⁽²⁷⁾. 비록 모델 시스템은 덜 실제적이지만, 실제 시스템의 많은 기본적인 특성[구동력

(driving force), 상호작용 등]들은 유지된다. Anderson 등(2000)은 물/기름 경계면에서 27-아미노산 잔기 peptide의 흡수(absorption)를 관찰하기 위하여 Monte Carlo lattice 시뮬레이션을 사용하였다⁽²⁸⁾. 최근에는 Lysozyme(125-아미노산 잔기들)과 같은 커다란 모델에 대한 연구가 Dinner와 Karplus에 의하여 보고되었다(그림 2)⁽²⁹⁾.

이 글에서는 생체분자에서 연구되고 있는 분자동역학 시뮬레이션의 다양한 적용 사례를 살펴보았다. 앞에서 설명한 바와 같이 단백질에 대한 분자동역학 시뮬레이션은 이제 매우 일반적으로 적용되는 기술로서 단백질뿐만 아니라 다른 생물학적 거대분자들에 대하여 적용되고 있다.

참 고 문 헌

- (1) Alder, B. J. and Wainwright, T. E., 1957, J. Chem. Phys., Vol. 27, p. 1208.
- (2) Rahman, A., 1964, Phys. Rev., Vol. A136, p. 405.
- (3) McCammon, J. A., Gellin, B.R. and Karplus, M., 1977, Dynamics of Folded Proteins Nature, pp. 267~325.
- (4) Levitt, M., 1983, Molecular Dynamics of Native Protein. 1. Computer-Simulation of Trajectories J. Mol. Biol. 168, pp. 595~620.
- (5) Levitt, M. and Sharon, R., 1988, Accurate Simulation of Protein Dynamics in Solution Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, pp. 7557~7561.
- (6) Daggett, V., 1995, Molecular-Dynamics Simulations of Peptides Abstr. Pap. Am. Chem. Soc. 209, 90-comp Part 1.
- (7) Duan, Y. and Kollman P. A., 1998, Pathways to a Protein Folding Intermediate Observed in a 1-Microsecond Simulation in Aqueous Solution Science, 282, pp. 740~744.
- (8) Brooks III, C.L., Karplus, M. and Pettitt, B.M., 1988, Proteins : A Theoretical Perspective of Dynamics, Structure and Thermodynamics. New York: Wiley.
- (9) Prusiner, S.B., Cell 93:337, 1998.
- (10) Forrest, L.R. and Sansom, S.P., 2000, Membrane Simulations: Bigger and Better? Curr. Opin. Struct. Biol. 10, pp. 174~181.
- (11) Tu, K., Klein, M. L. and Tobias, D. J., 1996, Constant-Pressure Molecular Dynamics Investigation of Cholesterol Effects in a Diapalmitoyl-phosphatidylcholine bilayer Biophys. J. 75, pp. 2147~2156.
- (12) Woolf, T. B., 1998a, Bacteriorhodopsin Alpha-helices in Lipid Settings: Insights for Structure Prediction Int. J. Quantum Chem. 69, pp. 105~116.
- (13) Newns, D., Zhong, Q., Moore P, Husslein, T., Pattnaik, P. and Klein, M., 2000, Molecular Dynamics Study of Structure and Gating of Low Molecular Weight Channels Parallel Comput. 26, pp. 965~976.
- (14) Sansom M. S. P., 2000, Potassium Channels : Watching a Voltagesensor Tilt and Twist Curr. Biol. 10, R206~R209.
- (15) Moore, P. B., Zhong, Q. F., Husslein, T. and Klein, M., 1998, Simulation of the Hiv-1 Vpu Transmembrane Domain as a Pentameric Bundle Febs Lett. 431, pp. 143~148.

- (16) Law, R. J., Forrest, L. R., Ranatunga, K. M., La Rocca, P., Tieleman, D. and Sansom, M. S. P., 2000, Structure and Dynamics of the Pore-lining Helix of the Nicotinic Receptor: Md Simulations in Water, Lipid Bilayers, and Transbilayer Bundles Proteins: Struct. Function Genetics., 39, pp.47~55.
- (17) Tieleman, D. F. and Berendsen, H. J. C., 1998, A Molecular Dynamics Study of the Pores Formed by Escherichia Coli Ompf Porin in a Fully Hydrated-Palmitoyloleoylphosphatidylcholine bilayer Biophys. J. 74, pp.2786~2801.
- (18) Shrivastava, I. and Sansom, M., 2000, Simulations of Ion Permeation Through a Potassium Channel: Molecular Dynamics of Kcsa in a Phospholipid Bilayers Biophys. J. 78, pp. 557~570.
- (19) Doughty, S. and Phillips, R., 2000, Molecular Modelling of Human Dt-Diaphorase for Enzyme-Directed Bioreductive Drug Design Mol. Simul., 24, p. 209.
- (20) Szilagyi, Z. and Fenselau, C., 2000, Molecular Dynamics Simulation of Metallothionein-Drug Complexes Drug Metab. Disposition 28, pp. 174~179.
- (21) Wlodawer, A. and Vondrasek, J., 1998, Inhibitors of Hiv-1 Protease: a Major Success of Structure-ssisted Drug Design Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 27, pp. 249~284.
- (22) Kulkarni, S. and Kulkarni, V., 1999, Structure Based Prediction of Binding Affinity of Human Immunodeficiency Virus-1 Protease Inhibitors J. Chem. Inform. Comput. Sci. 39, pp. 1128~1140.
- (23) Zuegg, J. and Gready, J. E., 2000, Molecular Dynamics Simulation of Human Prion Protein Including Both N-linked Oligosacc-Harides and the Gpi Anchor Glycobiology, 10, pp.959~974.
- (24) Purkiss, A. G., Slingsby, C. and Goodfellow, J. M., 2000, Simulation of the Highly Stable Protein: Bovine Gamma B-crystallin at Room and High Temperature Protein Pept. Lett. 7, pp. 211~217.
- (25) Hagen, S. J., Hofrichter, J., Szabo, A. and Eaton, W. A., 1996, Diffusion-limited Contact Formation in Unfolded Cytochrome C: Estimating the Maximum Rate of Protein Folding Proc. Natl Acad. Sci. USA 93, pp. 11615~11617.
- (26) Eaton, W. A., Mu, oz V., Hagen, S., Jas, G., Lapidus, L., Henry, E. and Hofrichter, J., 2000, Fast Kinetics and Mechanisms in Protein Folding Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 29, pp. 327~359.
- (27) Levitt, M. and Warshel, A., 1975, Computer Simulation of Protein Folding Nature, 253, pp.694~698.
- (28) Anderson, R. E., Pande, V. S. and Radke, C. J., 2000, Dynamic Lattice Monte Carlo Simulation of a Model Protein at an Oil/Water Interface J. Chem. Phys. 112, pp. 9167~9185.
- (29) Dinner, A.R. and Karplus, M., 1999, Is Protein Folding the Reverse of Protein Unfolding : a Lattice Simulation Analysis J. Mol. Biol. 292, pp. 403~419.