

자기조립 펩타이드 나노구조체: 인조단백질 소재 개발을 위한 최소론자적 접근법

Self-assembled Peptide Nanostructures: Minimalist Approach to the Development of Artificial Protein Materials

최성주 · 한상헌 · 임용범 | Sung-ju Choi · Sanghun Han · Yong-beom Lim

Department of Materials Science & Engineering, Yonsei University
Shinchon 134, Seoul 120-749, Korea
E-mail: yblim@yonsei.ac.kr

1. 서론

본 특집에서는 자기조립 펩타이드 나노구조체(self-assembled peptide nanostructure)에 관하여 다루고자 한다. 자기조립 펩타이드 나노구조체는 단일분자 펩타이드가 응집(agggregation)되어 생성된다. 지금까지 많이 연구되어 왔던 block copolymer, surfactant 등의 자기조립 단위체(self-assembly/supramolecular building block)에 비교한다면, 자기조립 펩타이드 나노구조체에서는 펩타이드가 응집이 되는 주체가 되는 것이다. 아미노산으로 이루어진 자기조립성 펩타이드(self-assembling peptide)는 매우 복잡 다양한 기능의 수행이 가능한 나노바이오소재를 만드는 데 있어 매우 유용한 물질이다. 인조단백질소재 개발을 위한 최소론자(minimalist)적 접근법은 단백질보다 상대적으로 단순한 펩타이드를 사용하여, 단백질의 기능을 모사(mimic)할 수 있는 나노소재, 또는 이상적으로는 단백질이 가지지 못한 새로운 기능을 수행할 수 있는 신소재를 만들고자 하는 연구방법론을 의미한다.

단백질은 폴리펩타이드(polypeptide)로 이루어져 있으며, 접힘(folding) 현상에 의하여 개별 단백질이 가진 고유의 생리기능에 적합한 3차원적(3D) 구조를 형성하고 있다. 즉, 모든 단백질은 그들만의 고유한 3D 구조를 가지고 있는 것이다. 단백질은 자연계에 존재하는 물질 중 가장 다양한 기능을 수행할 수 있는 물질 중 하나이며, 또한 매우 복잡한 구조를 가지고 있다. 단백질의 접힘 현상을 다른 말로 표현하자면 자기조립(self-assembly)이라 일컬을 수 있다. Anfinsen(Christian B. Anfinsen, 1972 Nobel prize laureate)의 이론에 따르면 단백질의 3D 구조는 아미노산 서열에 의하여 이미 정해진다고 한다. 즉, 아미노산들이 아미드결합(amide bond)을 통하여 서로서로 연결된 폴리펩타이드 고분자는 가장 안정된 free energy를 가지는 상태를 취하는 것을 선호한다는 것이다.

Author



최성주

2010 연세대학교 세라믹공학과(학사)
2010-현재 연세대학교 신소재공학과 (석·박사 통합과정)



한상헌

2011 연세대학교 금속시스템공학과(학사)
2011-현재 연세대학교 신소재공학과 (석·박사 통합과정)



임용범

1995 성균관대학교 화학과(학사)
1997 서울대학교 화학과(석사)
2001 서울대학교 화학과(박사)
2002-2006 University of California, San Francisco (UCSF), Dept. of Biochemistry & Biophysics, Post-doc.
2006-2009 연세대학교 화학과 연구교수
2009-현재 연세대학교 신소재공학과 부교수

안정화된 3D 구조를 가지게 된 다양한 단백질들은 생명 시스템 내에서 각각의 고유한 기능을 수행하게 된다. 효소는 기질이 생성물로 변하는 반응에서 보통의 유기반응에 비하여 매우 빠르고 놀라운 특이성으로 촉매역할을 한다. 세포구조의 유지, 세포내수송, 세포운동성 및 세포부착의 역할을 하는 세포외기질과 세포골격에는 구조단백질이 있으며, 막단백질은 세포막을 경계로 한 물질수송의 기능을 수행한다. 이외에도 많은 단백질들이 구조, 기능적 측면에서 그들만의 독특한 역할을 하고 있다. 이처럼 단백질은 매우 종류가 많고 기능도 다양하기 때문에 하나의 분류방식을 정하기는 쉽지 않다. 또한 유비퀴틴화, 인산화 반응, 글리코실화 등의 번역 후 변형은 단백질의 기능 및 구조적 다양성을 더욱 복잡하게 만든다.

단백질은 합성고분자와 비슷하며 사실 고분자이다. 하지만 합성고분자와 비교하여 단백질은 다양한 특징이 있다. 가장 두드러진 특징 중 하나는 단백질은 각자 고유의 아미노산 서열에 따라 고유한 3차원 구조를 가진다는 점이다. n개의 잔기로 구성된 폴리펩타이드는 원칙적으로 8ⁿ개의 구조를 가질 수 있다.¹ 하지만 단백질 합성 기구는 눈에 띄게 높은 정확도와 효율로 신생 폴리펩타이드가 정확하게 접히도록 만든다. 그러므로 모든 단백질 분자는 대체로 하나의 3차원 구조를 갖는다. 합성고분자와 비교하여 또 다른 중요한 특성은 분자량의 단분산성(monodispersity)이다. 단분산성 덕분에 단백질 제조시 만들 때 마다 성분이 변하게 되는 것을 최소화할 수 있다. 게다가 최근 들어 비자연 및 합성아미노산의 종류가 급속하게 늘어나게 되어, 필요에 따라 천연단백질의 구조와 기능을 바꾸거나 자연계에 존재하지 않는 완전히 새로운 단백질을 만드는 것이 가능해졌다.²

하지만 산업적으로 이용할만한 경제적 효용가치가 우수한 단백질을 개발하는 데에는 몇 가지 제약이 따른다. 첫째로, 열적으로 안정한 소수의 단백질을 제외하고 대부분의 단백질은 고온에서 기능을 잃는다. 단백질이 접히거나 자기조립하는 동안 소수성 상호작용, 수소 결합, 반데르발스 힘, 정전기 상호작용 등이 접히지 않은 상태의 단백질을 안정화시킬 때 중추적인 역할을 한다. 보통 천연 단백질은 매우 약하게 안정화(marginally stable)되어 있다.³ 접힌 상태를 안정화시키기 위하여 접히지 않은 단백질보다 불리한 구조적 엔트로피를 보상하는데 에너지를 소모하는 등의 다양한 요인들의 영향으로, 접힌 상태는 접히지 않은 상태보다 단지 약 -5에서 -10 kcal/mol 정도의 $\Delta G_{\text{folding}}$ 가 더 안정할 뿐이다.^{4,5} 이러한 이유 때문에 단백

질의 열적안정성을 높이기 위한 많은 연구가 시도되고 있다.⁶ 둘째로, 세포내발현을 통하여 단백질을 얻는 방법으로는 규모를 확대하는 것이 어려우며 대량생산이 매우 힘들다. Native chemical ligation 기술은 단백질을 화학적으로 합성하는 것을 가능하게 만들었지만 커다란 단백질을 화학적으로 합성하는 것은 여전히 크나큰 도전이다.⁷ 셋째로, 경우에 따라 원하는 기능과 구조를 갖는 단백질을 만들고자 할 때 아미노산 결사슬의 화학적 개질이 필요한 경우도 있다. 하지만 단백질의 특정 천연아미노산을 화학적으로 개질하여 특정 화학작용기로 바꾸는 것은 아직 시작단계의 기술에 불과하며, 더욱이 화학적으로 개질된 단백질을 대량으로 합성하는 것은 더욱 어렵다.

펩타이드는 2개 이상의 아미노산이 펩타이드 결합으로 연결된 분자로 정의된다. 펩타이드는 단백질과 같은 화학적 구조를 갖고 있지만 길이가 짧다. 보통 50개 미만의 아미노산을 가지면 펩타이드라 하고 그보다 많은 경우 단백질을 이라 한다. 아미노산의 평균 분자량(110 Daltons)을 고려하면, 분자량이 약 5,000-6,000 이하의 폴리펩타이드 고분자를 펩타이드라고 할 수 있다. 고체상 펩타이드 합성(SPPS)의 개발로 펩타이드합성의 자동화가 상당히 발전하여 50개 이상의 아미노산으로 구성된 펩타이드를 1-2일 내에 합성하는 것이 가능해졌다. 펩타이드 합성 중에 펩타이드 사슬에 비자연 아미노산을 붙이거나 다른 분자를 화학적으로 접합(conjugation)시키는 것은 상대적으로 어렵지 않다. 이러한 관점에서 펩타이드의 성질은 기능성, 생체적합, 생활성 재료로서 유망하다. 순수한 펩타이드 분자

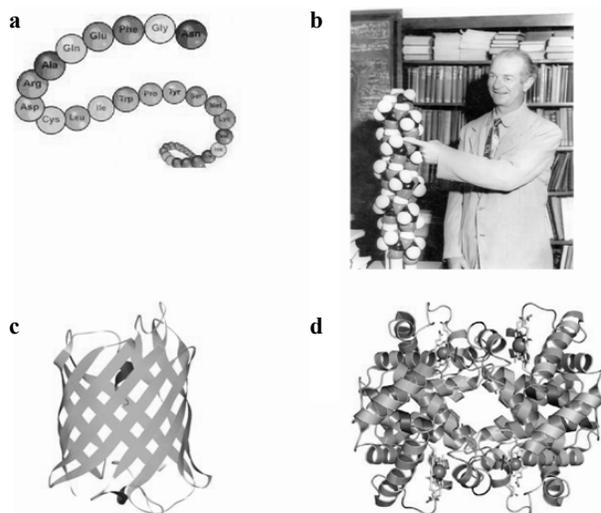


그림 1. 단백질의 구조: (a) 1차 구조, (b) 2차 구조인 α -나선 그리고 α -나선 구조의 존재를 제안한 Linus Pauling, (c) 3차 구조인 β -barrel, (d) 4차 구조인 헤모글로빈.¹⁵⁻¹⁷

표 1. 자기조립 펩타이드 나노구조체의 분류

Classification	Major driving force for self-assembly	Potential applications
1. Membrane active peptide nanostructures		
a) Peptide nanotube	Interactions between β strands	Antibiotics, electronic materials
b) Rod-coil membrane pore	Hydrophobic interaction	Antibiotics
c) Peptide nanoring	Interactions between β strands	Antibiotics, artificial channel
2. Peptide nanostructures for intracellular delivery		
a) Bioactive peptide-coated nanoribbon	Interactions between β strands	Drug delivery
b) Block copolypeptides	Hydrophobic interaction	Drug delivery
c) Peptide-dendrimer	Hydrophobic interaction	Drug delivery
d) Filamentous nanoribbon	Interactions between β strands	Gene delivery
3. Structural peptide nanomaterials		
a) Peptide amphiphiles	Hydrophobic interaction	Biomineralization, tissue engineering
b) Vertical nanotube	Hydrophobic interaction	Electronic materials, sensors
c) Clathrin mimics	Hydrophobic interaction	Structural and delivery materials
d) Helix bundle nanofiber	Coiled-coil helix bundles	Structural materials
e) Peptide hydrogel	Interactions between β strands	Tissue engineering
4. Stabilized peptide nanostructures		
a) α -Helix-coated peptide nanostructures	Interactions between β strands	Modulation of biomolecular interactions
5. Other peptide-based materials		
a) Peptide-coated metal particles	n.a.	Sensor, intracellular delivery, detection
b) Peptide-coated carbon nanotubes	Hydrophobic interaction	Sensor, intracellular delivery, detection
c) Peptide for s biomineralization	n.a.	Bioinspired materials
d) Peptide-polymer conjugates	n.a.	Structural and delivery materials

자체로나 펩타이드-고분자 접합체 같이 다른 분자와 접합한 펩타이드가 알맞게 설계되면 펩타이드는 자기조립되고, 궁극적으로 자기조립 펩타이드 나노구조체를 만들 수 있다. 자기조립 펩타이드 나노구조체는 천연단백질의 다양한 생물학적 기능을 대신하거나 더 향상된 성질과 자연계에 없었던 기능을 보여줄 수 있다.

자기조립 펩타이드 나노구조체는 bottom-up process를 사용하여 만든다. 그러므로 기존의 자기조립 공정과 나노기술 지식들이 자기조립 펩타이드 나노구조체를 개발하는데 적용될 수 있으며, 단백질 접합과 자기조립에 관련된 근본적 원리가 인조자기조립 펩타이드 나노구조체의 개발에 상당한 영감을 줄 수 있다. 이런 면에서 자기조립 펩타이드 나노구조체를 “인조단백질 나노구조체”라고 부를 수 있다.

본 특집에서는 자기조립 펩타이드 나노구조체 개발 분야에 대하여 전반적인 소개를 하고자 한다. 자기조립 펩타이드 나노구조체의 분류는 펩타이드의 기능, 화학적 구조, 나노구조적 성질 그리고 응용분야를 기준으로 하였다(표 1). 구체적 예를 살펴보기에 앞서, 일반적인 자기조립 과정과 자연계 단백질의 구조에 대한 기초를 알아보자. 보다 관심 있는 독자들은 자기조립 펩타이드 나노구조체에 구체적으로 기술한 최근 리뷰논문들을 참조하기 바란다.⁸⁻¹⁴

2. 자연계 단백질 구조로부터의 교훈

단백질의 구조는 1차 구조부터 4차 구조까지 분류한다. 간단하게 단백질의 3차원 구조의 형성에 관여하는 기본적인 법칙을 알아보자. 인조자기조립 펩타이드 나노구조체를 설계하는데 있어서 자연의 교훈을 이해하는 것은 매우 도움이 된다.

2.1 아미드 결합과 폴리펩타이드 사슬의 감소한 유연성 (Reduced Flexibility)

폴리펩타이드 사슬의 뼈대는 아미노산 간의 펩타이드 결합이 만들어지면서 형태를 갖춘다. 탄소-질소 결합은 부분적으로 이중결합을 갖는 공명구조이기 때문에 펩타이드 결합의 탄소-질소 결합과 결합한 곳의 4개의 원자는 항상 평면 구조를 이룬다. 이 탄소와 질소원자 간의 부분적 이중결합이 이 결합의 회전을 억제함으로써 펩타이드 그룹이 평면구조를 이루게 되며, 그 결과 폴리펩타이드 사슬의 유연성이 줄어들게 된다. 폴리펩타이드 뼈대에 잔존하는 유연성은 두 펩타이드 평면 그룹 간을 연결하는 알파탄소의 회전에 기인한다. 또한 펩타이드의 NH기와 카보닐기 사이에 형성되는 수소결합은 폴리펩타이드 사슬이 가질 수

있는 구조를 더욱 제한한다. 이러한 제한 때문에 대부분의 폴리펩타이드 사슬은 정해진 일련의 2차 구조를 갖는다.

2.2 단백질의 2차 구조(Secondary Structure)

단백질의 1차 구조(primary structure)는 폴리펩타이드 사슬을 구성하는 아미노산 잔기의 배열순서이다. 이 1차 구조는 폴리펩타이드 사슬이나 1차 구조 내 가까운 아미노산 잔기들의 공간적 상호작용으로 인해 정해지는 2차 구조를 형성하게 된다. 구상 단백질(globular protein)을 구성하는 주요기본단위에는 α -나선(α -helix), β -가닥(β -strand) 혹은 β -병풍(β -sheet) 그리고 회전(turn)까지 세 가지의 2차 구조 기본단위가 있다.

α -나선은 2차 구조에서 가장 식별하기 쉽고 잘 알려진 기본단위일 것이다. 구상단백질을 구성하는 모든 잔기의 30% 이상이 나선구조에서 발견되며 α -나선은 단백질에서 발견되는 가장 일반적인 구조 모티프(motif)이다. 폴리펩타이드 사슬의 뼈대에 하나의 잔기가 가진 카보닐기의 산소와 4개의 잔기 앞에 있는 또 다른 잔기의 NH기에 있는 수소가 수소결합을 형성한다. 즉, i 번째 잔기와 $i+4$ 번째 잔기가 수소결합을 이룬다. α -나선 구조의 축에 평행하게 다수의 수소결합이 형성되어 α -나선이 휘는 것을 억제하고 막대 같은 성질을 갖게 한다. 또한 이 수소결합들은 지향성을 가지므로 산소원자의 음전성 때문에 발생하는 분극 특성이 발견되어 α -나선 구조는 쌍극자 모멘트(dipole moment)의 특성을 갖는다. 평균적 길이를 갖는 나선구조의 N말단에선 +0.5~0.7정도의 단위전하량을 갖고 C말단에선 -0.5~0.7정도의 단위전하량을 갖는다. α -나선 구조외에도 폴리프로린 나선(polyproline helix), 콜라겐 나선(collagen helix), 3_{10} -나선, π -나선, β -나선(β -helix)등의 다양한 나선구조가 존재한다.

β -가닥은 α -나선보다 더 연장된 형태로 이웃하는 잔기의 비슷한 원자 사이에 α -나선의 두 배 이상인 0.34 nm의 translation distance(α -나선은 0.15 nm)를 갖고 두 개의 잔기가 한 회전을 이루는 매우 가늘고 긴 구조이다. 하나의 β -가닥은 구조안정화를 위한 공간적 상호작용이 제한되어 있으므로 매우 불안정하다. 하지만 두 개 이상의 β -가닥이 더 많은 수소결합을 형성함으로써 인해 β -병풍(β -sheet)으로 불리는 판모양의 안정한 구조가 형성된다. 하나의 β -가닥 옆에 이웃한 β -가닥은 평행(parallel)이나 역평행(antiparallel)한 형태로 배열할 수 있다. 평행 혹은 역평행 β -병풍구조에서 β -가닥의 아미노산 결사슬은 번갈아가며 판의 양쪽을 가리키는 방향으로 배열한다.

회전은 폴리펩타이드가 방향을 바꾸거나 때때로 다시

이전 형태로 돌아오는 것을 가능하게 하는 전체적인 역할을 한다. 회전에 포함된 잔기의 비율이 30%를 넘는 단백질도 있기 때문에, 회전은 불규칙한 구조로 간주할 수 없다. 단백질에서 가장 일반적인 회전 모티프는 4잔기로 이루어진 β 회전이다. 3잔기로 이루어져 첫번째 잔기와 세번째 잔기간에 수소결합이 형성되는 γ 회전은 β 회전에 비해 매우 흔하지 않다. 두 가지 회전 모티프 모두 보통 역평행 β -병풍 구조에서 근접한 두 부분의 끝을 연결할 때 많이 사용된다.

2.3 단백질의 3차·4차 구조와 거대분자 조립체

3차 구조(tertiary structure)는 폴리펩타이드 사슬이 접힌 구조를 말한다. 아미노산과 2차 구조를 연결하며 단백질 접힘이 일어나며 조밀한 구상 분자를 형성한다. 아미노산과 2차 구조 간에 수소결합, 정전기 상호작용, 반데르발스 상호작용, 소수성 상호작용 등이 작용하여 단백질의 3차원 구조를 안정시킨다. 3차 구조를 안정시키기 위해서는 밀어내는 등의 불리한 상호작용보다는 끌어당기는 상호작용이 일어나야 한다. 안정화시키는 상호작용은 약하기 때문에 단백질의 3차 구조는 단단하게 고정되어 있지 않으며 미세하고 연속적인 변동이 일어난다. 3차 구조의 안정도는 단백질의 종류에 따라 다르며 단백질 기능과 조절에 중대한 영향을 미친다.

어떤 단백질은 두 개 이상의 같거나 다른 폴리펩타이드 사슬들이 모여 이루어져 있으며, 공간상에서 이 폴리펩타이드들이 상호작용하여 4차 구조를 이룬다. 3차 구조 형성에 기여한 상호작용들과 같은 상호작용으로 인해 4차 구조가 형성된다. 많은 단백질의 경우 소중합체적 특성(oligomeric or modular property)이 기능을 조절하는 메커니즘에 큰 영향을 미친다. 올리고머 단백질(oligomeric protein)의 한가지 이점은 리간드나 기질 결합이 전체 조립형태의 구조적 변화(conformational change)를 일으킴으로 인해 단백질의 다른자리 입체성 조절(allosteric regulation)의 기초가 되는 것이다. 다른자리 입체성 조절의 잘 알려진 예는 헤모글로빈의 협동 산소결합에서 볼 수 있다.

거대분자 조립체와 다중단백질 집합체(multiprotein complex)는 단백질 구조의 최상단계로 보통 수십 수백 개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되어 있다. 리보솜(ribosome)과 같은 거대분자 조립체는 종종 핵산을 결합하여 혼성(hybrid) 거대분자 조립체를 이룬다. 거대분자 조립체는 개별기능을 하나의 과정으로 통합하여 복잡한 세포 과정을 수행하는 분자 기계로 작동하기도 한다. 생물학적 체계에서 분자 기계로는 리보솜, 이어맞추기복합체(spliceosome), 핵공복합체

(nuclear pore complex), 프로테아좀(proteasome), 샤페론(chaperonin), 광계복합체(photosystem complex) 등이 있다. 미래의 인조단백질 나노구조체 연구는 간단한 펩타이드 단위체들로 구성되어 천연 거대분자 조립체와 유사한 기능을 수행할 수 있는 bionanomachinery를 개발하는 방향으로 진행될 것이다.

3. 자기조립과 자기조립 나노구조

나노구조는 분자 수준과 마이크로미터 수준 사이의 크기로 존재하며 일반적인 크기의 재료와 다른 독특하고 중요한 성질로 인해 최근 몇 년간 주목받고 있다. 나노구조는 크기, 형상, 안정성과 같은 물리화학적 특성에 따라 서로 다른 성질을 나타내게 된다. 이러한 나노구조들은 전자 재료, 에너지 재료 및 바이오 재료까지 매우 폭넓게 응용이 가능하다.

나노구조 합성법은 하향식(top-down)과 상향식(bottom-up)의 두 가지 방법이 일반적으로 널리 이용된다. 하향식은 나노구조를 형성하는데 커다란 재료를 원하는 방법과 모양으로 조각하듯이 깎아내는 방법으로 분자 수준의 정밀한 제어가 쉽지 않은 단점이 있다. 반면에 상향식은 분자 수준에서 자기조립과 같은 방법을 이용하여 구조를 형성하기 때문에 보다 정밀한 구조 형성이 가능하다. 따라서 자기조립 단위체의 조절을 통하여 원하는 형태의 자기조립체 합성이 가능하며 실제로 단백질을 비롯한 다양한 생체 구조체들은 이러한 자기조립을 통해서 형성된다.

3.1 자기조립 구동력: 비공유 결합

자기조립 현상은 자연계에서 자연스럽게 최적화를 이루어낸 합성 체계이다. 자기조립은 대개 자기조립 단위체들이 모여드는 힘과 이러한 구동력에 대립하는 힘, 자기조립된 물체의 구조 및 작용기에 의해 형성된 힘 등, 3가지의 주요한 힘들이 균형을 이루는 것을 바탕으로 하여 이루어지고 있다.¹⁸ 자기조립을 이루는 가장 기본적인 힘은 비공유 결합(non-covalent interactions)으로 정전기 상호작용(electrostatic interactions), 소수성 상호작용(hydrophobic interactions), 반데르발스 힘(van der Waals force), 수소 결합(hydrogen bonds), π - π 상호작용(π - π stacking interactions), 배위결합(coordination bonds) 등이 있다.

비공유결합은 공유결합과 비교하여 약하고 끊어지기 쉬운 결합이지만 많은 수의 비공유결합들이 모이게 되면 아주 강한 결합을 형성하여 자기조립 과정 전반에 걸쳐서

중요하고 강력하게 작용하며 나노구조 형성을 돕게 된다.¹⁹ H.R.Crane에 의해 제안된 이론에 의하면 두 개의 분자나 물체가 상호작용하는 경우에 결합의 특수성을 높이고자 원한다면 다수의 약한 결합이 완벽히 이루어져야 한다. 서로 상호작용하는 분자나 물질의 표면구성은 완벽한 형태의 일치와 많은 수의 약한 결합들이 올바른 위치에서 상호작용하여 자기조립하게 된다.

소수성 상호작용은 반데르발스 힘이나 수소결합과 같은 약한 결합에 비해서는 상대적으로 강한 결합을 나타낸다. 소수성 결합은 단백질 구조 형성은 물론 다른 여러 생체 물질이나, 특히 양친매성 물질들에서 소수성 결합을 구조 형성의 가장 중요한 구동력으로 이용하고 있다.

양친매성 물질들의 자기조립은 서로 다른 두 성질을 지닌 구조의 미세상 구역 형성을 통해 나타난다. 이러한 경우 용매는 한 성질에는 친밀하지만 다른 성질에는 친밀하지 않은 용매를 선택하게 되는데, 물을 용매로 선택하는 경우 양친매성물질은 집단을 이루며 비극성 부분은 물과 만나는 부분을 최대한 줄이는 방향으로 움직이며 극성 부분은 물과 만나는 면적을 최대한 넓히고자 반응한다. 소수성 상호작용은 비극성 부분의 내재적인 힘에 의한 결과가 아니며 열역학적 안정성을 최대화시키기 위한 경향성의 결과로 나타나게 된다.

정전기적 상호작용은 전하를 지닌 두 개의 원자, 이온, 분자들 사이에서 쿨롱 상호작용을 통해 나타난 인력과 척력을 말한다. 쿨롱 상호작용은 아주 강하고(500~1,000 kJ/mol), 긴 거리 사이(~50 nm)에서도 나타난다. 단백질과 펩타이드의 경우 정전기적 작용은 N-말단의 암모늄과 C-말단의 카르복시산염과 같이 서로 다른 전하의 잔기를 가진 곁사슬들 사이에서 발생하게 된다. 전하를 지니고 있기 때문에 이러한 아미노산 잔기들은 단백질 표면에서 주로 나타나며 물 분자와의 결합은 이러한 힘들을 약하게 만든다. 결과적으로 정전기적 상호작용은 단백질 구조 안정에 크게 기여하지 못하는 것이 일반적이다.

반데르발스 힘은 공유결합이나 정전기적 작용하는 이온으로 인해 분자 간에 발생하는 인력이나 척력을 뜻한다.²¹ 반데르발스 힘은 원자, 분자 수준에서 작용하는 쌍극자 혹은 유발 쌍극자 힘에 의해서 형성된다. 반데르발스 힘에는 키섬(영구 쌍극자 간), 드바이(영구 쌍극자-유발 쌍극자 간), 런던 힘(유발 쌍극자 간)의 세 가지 힘이 존재한다.

반데르발스 힘은 단백질 안정화에 아주 중요한 힘으로 작용한다. 원자들은 진동을 계속하고 있기 때문에 쌍극자도 항상 유도된다. 단백질 구조에 영향을 주는 다른 힘과

비교해서 반데르발스 힘은 아주 약하지만 수 많은 반데르발스 힘들이 모여서 단백질의 3차 구조를 유지하는데 아주 중요한 역할을 하게 된다.

수소 결합은 분자 간 상호작용에서 강력한 힘 중 하나이다. 수소 결합은 생체 내에서 나타나는 다양한 현상들을 이해하는데 아주 중요하다. 주로 산소나 질소와 같이 비공유 전자쌍을 가지고 전기 음성도가 큰 원자에 공유 결합으로 연결된 수소 원자에 역시 전기 음성도가 큰 다른 원자가 동일 분자 내에서 혹은 다른 분자 사이에서 서로 수소주개, 받개로 작용하여 나타나는 힘이다. 수소 결합은 방향성이 뚜렷하며 결합된 분자들이 수소 분자와 다른 분자들이 일직선으로 결합하여 전기적 상호작용을 최대화시키는 방향으로 정렬될 때 아주 강한 힘을 나타낸다. 수소 결합은 α -나선 구조를 안정화시키는데 강하게 기여하며 β -병풍의 결합, DNA 염기 간의 결합에도 역시 기여한다. 다양한 분자 내 수소 결합은 단백질과 핵산 분자의 3차원 구조 형성 및 안정화에 아주 중요하게 작용한다.

3.2 인공 설계된 자기조립 펩타이드

3.2.1 지질 이중막 구조와 결합하는 자기조립 펩타이드 나노구조체

막단백질(membrane proteins)은 세포막의 지질 이분자막과 결합하는 단백질 분자들이다. 그 중 수송 단백질(transport proteins)은 이온, 저분자 물질, 거대분자 물질들이 생체막을 통과하는 과정을 돕고 있다.

Ghadiri와 그의 연구팀은 고리형 펩타이드 구조를 기반으로 하는 막 수송 단백질 모방체를 연구, 발전시켰다.^{19,20,21} 그들은 짝수의 *D*-/*L*-아미노산이 순차적으로 나타나면서 가장 낮은 에너지의 평면 링 구조를 가지는 고리형 펩타이드를 설계하였다. 이 링 구조는 주사슬의 아미드 작용기가 구조적인 평면에 수직인 방향으로 설계되어 단위체들이 서로 정반대 방향으로 쌓이면서 주사슬에서 분자간 수소 결합

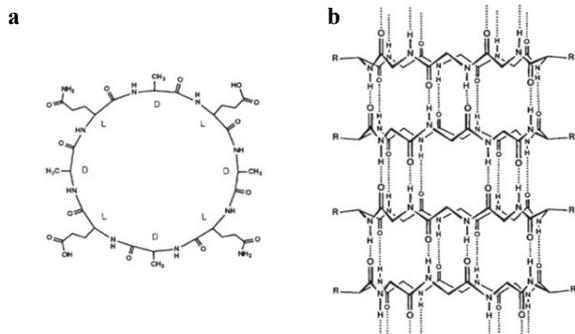


그림 2. (a) 평면 링 구조를 갖는 고리형 펩타이드의 화학 구조(*D*-/*L*- 아미노산의 chirality), (b) 자기조립된 펩타이드 단위체.²⁰⁻²²

으로 인해 잘 연결된 β -병풍 구조를 나타내게 된다(그림 2).

D-아미노산과 *L*-아미노산의 교차 서열로 인해 펩타이드의 결사슬들은 자기조립된 구조 바깥으로 향하게 되고 따라서 속이 뚫린 나노튜브 구조가 형성된다. 소수성 결사슬들이 펩타이드 나노튜브의 표면에 위치하면서 나노튜브가 지질막 사이에 결합하는 것을 가능케 했다(그림 2(b)). 이러한 막 활성화 펩타이드 나노구조는 항균 물질의 박테리아 막 침투성을 높이는 구조로 사용이 가능하다.²³

최근에 보고된 연구결과에 따르면 잘 형성된 인공 β -barrel 단백질을 펩타이드 자기조립으로부터 얻을 수 있었다.²⁴ β -barrel 단백질들은 자연계에서 세포질 내에 존재하는 단백질과 막관통 단백질의 두 형태로 나타난다. 세포질 내 β -barrel 단백질은 수용성이지만 막관통 단백질은 불용성, 양친매성 물질이다. 두 가지 형태를 모두 합성하기 위해 유기물질과 펩타이드가 동시에 존재하는 T형 단위체를 설계하였다(그림 3).

이 구조의 가장 큰 장점은 수용성 β -barrel의 형성 과정이 자연계 단백질의 형성 과정과 아주 유사하며 간단한 분자 구조 변형을 통하여서 막관통 단백질도 아주 우수하게 합성이 가능하다. 인공적으로 합성된 펩타이드를 이용하여 자연계 단백질과 동일한 구동력을 이용하여 나노반응체나 이온, 저분자 물질 선택 통로, 새로운 항생제 등으로의 사용이 가능함을 보여주었다.

3.2.2 세포 내 물질 전달을 위한 자기조립 펩타이드 나노구조

UCLA 연구진들은 poly(*L*-Lysine)-*b*-poly(*L*-Leucine), poly(*L*-Glutamic acid)-*b*-poly(*L*-Leucine), poly(*L*-Arginine)-*b*-poly(*L*-Leucine) 등 다양한 펩타이드 결합체를 사용하여 펩타이드를 약물 전달체로 사용하는 실험을 하였다.²⁵⁻²⁷ 이 펩타이드는 poly(*L*-Leucine)부분이 α -나선형 소수성 막대로 형성되는 힘을 구동력으로 사용하여 결합한다. 특정 조건하에서 먼간 곡률이 상대적으로 낮게 형성된 경우에

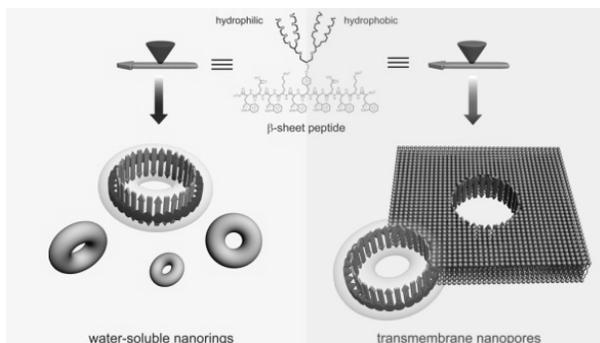


그림 3. 수용성(좌), 불용성(우) 막관통 β -barrels 단백질로 자기조립된 T형 펩타이드.

는 때때로 소포(vesicle) 구조를 나타내기도 한다(그림 4).

Polyarginine으로 잘 형성된 vesicle 구조는 수용성 약용 물질을 내부에 포함(entrapment)하여 세포 내로 전달하는 전달체로의 사용이 가능하다. Arginine의 guanidinium 잔기들은 CPPs(cell penetrating peptides)의 세포 내 침입 과정을 도와서 vesicle 구조와 약 물질 모두 세포 내로 침투하는 것을 가능하게 한다.

나노구조체는 아주 우수한 생물학적 활성을 지니게 되는데 이는 주로 나노구조체 형태와 크기 같은 물리적 조건에 의해 결정된다. 이러한 차이를 보여주는 예 중 한가지는 금나노입자(gold nano particle(GNP))의 크기 차이에 의하여 다른 세포 반응이 야기되는 실험이다.²⁸ 유사하게 기능화된 나노 입자들이 구형, 원통형 등 서로 다른 모양으로 형성되었을 때 세포 침투 효율이 서로 다르게 나타날 수도 있다.^{29,30} 탄소나노튜브(carbon nanotubes, CNTs)에 있어서도 짧은 길이의 CNTs가 세포 침투 효율이 더욱 우수하다는 연구가 보고되었다.³¹ 리간드를 이용하는 나노구조는 결합 대상과 다중 결합을 이루고자 할 때 동일하게 크기와 형태가 아주 중요하게 작용한다. 이러한 경향성은 carbohydrate-bacterial 세포와 carbohydrate 다중 결합계에서 잘 알려져 있다.³²⁻³⁴

생체 활성화 펩타이드가 첨가된 펩타이드 나노구조의 크기와 형태를 조절하는 내용에 대한 실험이 연세대 연구진에 의해 진행되었다.³⁵ CPP Tat-based 양친매성 펩타이드에서 소수성 부분의 상대적인 부피 변화에 따른 구조적인 변화를 관찰하기 위하여, Tat-CPP의 N-말단에 1개부터 8개까지의 가지모양 지방산을 다양하게 합성하였다. 이 연구는 Tat-coated 나노구조의 형태, 크기, 안정성 등에 대한 조절이 간단한 분자 조절 방법을 통하여 가능하다는 점을 보였다(그림 5(a)).

또한 세포 독성 검사 결과, 안정성이 부족한 나노구조는

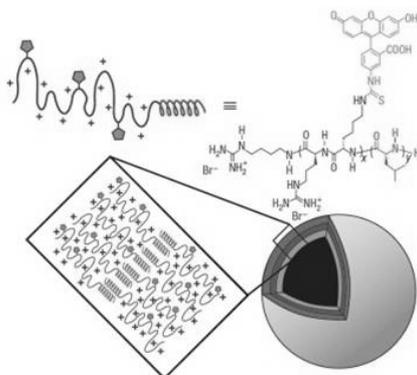


그림 4. Poly(L-Arginine)-*b*-poly(L-Leucine)의 자기조립을 통해 유도된 vesicle 구조.²⁶

세포 원형질 막을 통과하는 과정에서 약한 결합으로 인해 파괴되거나 통과하지 못하고 그대로 남게 되면서 세포에 독성 물질로 작용하지만, 안정된 나노구조의 세포 독성 검사 결과는 Tat-CPP만 존재하는 분자의 결과와 거의 유사하였다. 이 결과를 통해 구조의 안정화가 세포 독성에도 주요한 영향을 준다는 점을 확인하였다.

최근에는 자기조립 펩타이드 나노구조를 이용하여 형상 조절이 가능한 인조 바이러스의 합성을 통해 유전자 전달에 이용하는 연구도 발표되었다.³⁶ 이 펩타이드의 구조는 자기조립 부분, 두 개의 연결 부분, 핵산 결합 부분, β -병풍 형성 부분과 carbohydrate ligand 부분으로 구성되어 있다(그림 5(b)). 펩타이드는 β -병풍 결합을 통하여 필라멘트 형상의 나노 리본 구조를 우선 형성하게 된다. 이러한 필라멘트 형상의 인조 바이러스는 집합체 형성 과정의 조절이 어려운 기존의 유전자 전달체의 단점을 극복하기 위한 것이다. 연구된 인조 바이러스는 siRNA와 소수성 약물 모두를 전달하는데 우수한 것으로 나타났다. 이는 조절가능한 바이러스의 형상에서 나타나는 것으로 표면 전하가 없어서 혈장 단백질과 결합하지 않고, carbohydrate ligands를 통해서 세포와는 결합을 잘하기 때문이다. 이 연구는 인조 바이러스의 형상과 크기 조절만을 통하여 문제점을 개선하였고 필라멘트 구조는 혈관 속에서도 강한 지속성을 보인다.^{11,37}

3.2.3 구조적 펩타이드 나노 재료

펩타이드 자기조립 나노구조는 나노구조재로서의 가능성도 지니고 있다. 그 중 Stupp 등에 의해 연구된 양친매성 펩타이드(peptide amphiphiles, PAs)가 주목할 만 하다. 양친매성 펩타이드의 분자 구조는 펩타이드 부분과 지방산 부분으로 구성되어 있다(그림 6).

특정 조건하에서 PA 단위체들은 소수성, β -병풍, 그리고 α -나선 상호작용 등을 종합적으로 사용하여 펩타이드 나노섬유를 형성하게 된다. 펩타이드 나노섬유는 생광물

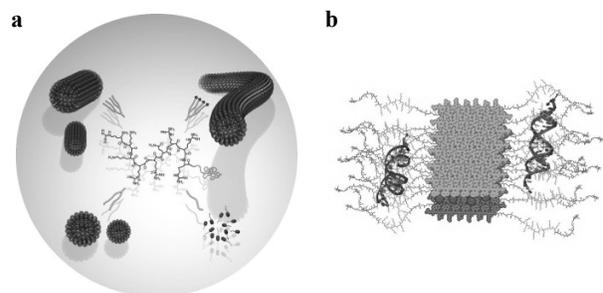


그림 5. (a) Tat-decorated 펩타이드 나노구조의 다양한 자기조립 구조,³⁵ (b) siRNA와 결합한 필라멘트 나노 리본 인조 바이러스 구조.³⁶

화,³⁸ 막과 액포 구조 형성,³⁹ 셀 정렬을 위한 단일 영역 젤 형성⁴⁰ 등 다양한 영역에 걸쳐서 이용이 가능하다. 또한 내부에 대량의 물 분자를 가둘 수 있는 하이드로젤(hydrogel)은 펩타이드의 자기 조립을 통해서 합성할수 있는데 우수한 펩타이드 기반의 생체적합성으로 인하여 의용공학적인 차원에서 많은 관심을 받고 있다.⁴¹

3.2.4 생체 분자 구조 결합 조절을 위한 펩타이드 나노구조

단백질의 2차 구조는 단백질 내에서는 아주 안정하지만 길이가 짧은 펩타이드 형태로 단백질에서 분리되면 열역학적 불안정성으로 인해 대부분 2차 구조가 와해된다. 2차 구조들 중 α -나선 구조는 단백질-단백질, 단백질-DNA, 단백질-RNA 등 다양한 생체 분자 결합에 아주 중요한 작용을 한다. 특정 구조를 통해 기능을 수행하는 단백질에서 기능 유지를 위한 구조 안정화는 아주 중요하며 특히 이를 생체상호작용에 관여하는 펩타이드 내에서 동일하게 유지하는 것은 아주 중요한 연구 과제이다.

최근 들어 연구자들은 α -나선 구조의 안정을 위해 간단한 구조의 펩타이드 자기조립을 통해 복수의 α -나선 구조를 안정화 시키는 연구를 진행하였다.⁴² 잠재적인 나선형성 부분과 자기조립에 이용될 부분을 거대고리형 펩타이드로 합성하여 이를 자기조립의 기본 단위로 이용하였다(그림 7(a)). 이러한 고리형 펩타이드는 자체의 고리형 구조를 통해 구조적 엔트로피를 낮춰주는 역할을 할 것이며, β -구조를 이루는 부분은 강력하고 안정된 구조를 형성하는 자기조립을 통해 나선 구조의 안정화에도 기여하게 될 것이다. 고리형 펩타이드의 자기조립은 나선 구조를 안정화시키고 전체적으로 원통의 형태를 가진 나노구조체를 형성시킨다. α -나선 구조가 β -병풍 구조보다 더욱 커다란 부피를 가지게 된다는 점을 고려하면 나선 구조가 바깥으로 나란히 정렬하는 형태로 자기조립 하게 된다. α -나선 구조 안정화와 조립된 나노구조체의 물성 조절을 위하여 펩타이드 공조립(coassembly)을 통한 나노구조 형성 연구 또한 최근에 진행되었다.⁴³ α -나선 구조와 β -병풍 구조를 동시에 지닌 고리형 펩타이드와 β -병풍 만을 형성하는 펩

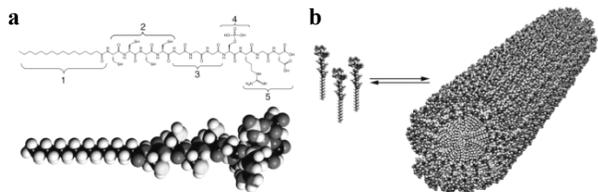


그림 6. PA 단위체의 원통형 마이셀 구조 자기조립: (a) PA 분자 구조 및 모델, (b) PA 나노섬유로 형성된 5-7 nm 지름의 섬유 다발.³⁸

타이드의 공조립을 통해 관찰한 결과 다수의 나선 구조들이 단일 β -병풍 구조 표면에 존재하며 안정화되는 것으로 확인되었다(그림 7(c)).

4. 결론

펩타이드는 중요한 생체 자기조립 재료로 그 구조와 기능에 대해 다양하게 연구되고 있다. 세포나 체내에 존재하는 막과 결합하여 다른 물질의 통로로 이용하거나, 약물이거나 유전자를 전달할 수 있으며, 또한 자기조립을 통해 형성된 구조 자체를 이용할 수 있으며, 경우에 따라 원하는 단백질 2차 구조를 안정화시키기 위한 도구로 사용된다. 이외에도 펩타이드를 기존의 무기 재료와 결합하여 무기 재료의 장점과 연성 재료의 장점을 동시에 사용하고자 하는 연구가 진행되고 있다.⁴⁴ 생광물화를 통하여 무기 물질의 나노구조를 변형시키거나 표면을 개질시키는데도 사용된다. 합성 중합체나 다른 거대 분자의 특성을 강화하기 위하여 화학적으로 다른 분자와 결합하여 이용되기도 한다.^{45,46}

자기조립 펩타이드 나노구조체는 저분자 물질과 거대 분자 물질 사이에서 자신의 위치를 확고히 다져 나가고 있는 중이다. 저분자 물질에 비하여서는 넓은 표면적과 구조적 복잡성을 확보하였으며, 거대 단백질에 비교하면 상대적으로 단순한 조작을 통해 다양한 구조와 기능을 가진 펩타이드 합성이 가능하다는 사실을 바탕으로 단백질의 원하는 부분만을 모방하여 응용할 수도 있다. 자연계 단백질

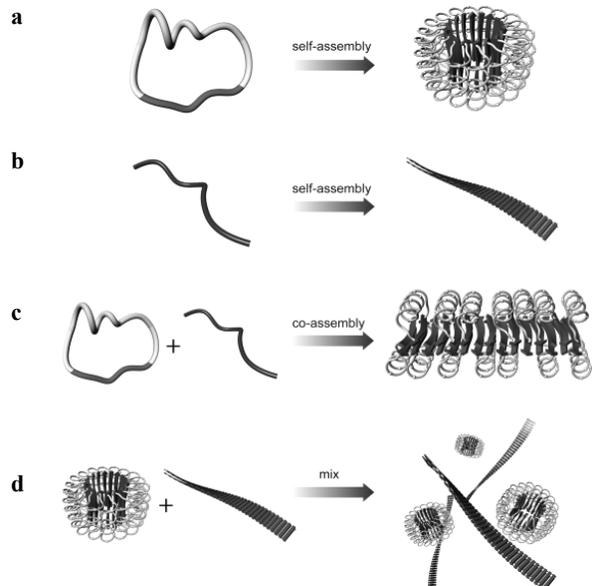


그림 7. (a) 거대고리형 펩타이드의 자기조립을 통한 β -barrel 유사 구조체의 형성,⁴² (b) 일반적인 β -ribbon 나노구조체 형성 과정, (c) 고리형 펩타이드와 β -병풍 구조 펩타이드의 공조립,⁴³ (d) 이미 형성된 나노구조체들의 단순 혼합: 공조립이 일어나지 않게됨.

의 복잡성과 인간이 감히 흉내내기 어려운 정교함을 고려한다면, 최소론자적 접근법은 분명 한계나 위험성이 있을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 창의적인 접근법을 고안한다면 자연계 단백질보다 우수한 성능을 가진 물질을 개발할 수도 있을 것이다. 예를 들면 유-무기 복합화 등의 방법을 이용한다면 자연계 단백질이 수행할 수 없는 기능을 가지는 신소재의 개발도 가능할 수도 있다. 자연으로부터의 교훈, 그리고 인공합성물질로부터의 교훈들을 잘 받아들이고 가공한다면, 획기적인 성능을 가진 펩타이드 기반 첨단 생체재료를 개발할 수 있을 것이다.

참고문헌

1. H. F. Lodish *et al.*, *Molecular cell biology*, 6th ed., W. H. Freeman & Company, Basingstoke, 2008.
2. C. J. Noren, S. J. Anthony-Cahill, M. C. Griffith, and P. G. Schultz, *Science*, **244**, 182 (1989).
3. T. E. Creighton, *Biochem. J.*, **270**, 1 (1990).
4. L. Giver, A. Gershenson, P. O. Freskgard, and F. H. Arnold, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 12809 (1998).
5. P. L. Privalov and N. N. Khechinashvili, *J. Mol. Biol.*, **86**, 665 (1974).
6. G. Vogt, S. Woell, and P. Argos, *J. Mol. Biol.*, **269**, 631 (1997).
7. P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, and S. B. Kent, *Science*, **266**, 776 (1994).
8. C. L. Chen and N. L. Rosi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **49**, 1924 (2010).
9. E. Gazit, *Chem. Soc. Rev.*, **36**, 1263 (2007).
10. H. M. Konig and A. F. M. Kilbinger, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **46**, 8334 (2007).
11. J. H. Lee, Y. J. Choi, and Y. B. Lim, *Expert Opin. Drug Deliv.*, **7**, 341 (2010).
12. Y. B. Lim and M. Lee, *J. Mater. Chem.*, **18**, 723 (2008).
13. Y. B. Lim, K. S. Moon, and M. Lee, *J. Mater. Chem.*, **18**, 2909 (2008).
14. Y. B. Lim, K. S. Moon, and M. Lee, *Chem. Soc. Rev.*, **38**, 925 (2009).
15. Y. B. Lim, K. S. Moon, and M. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **48**, 1601 (2009).
16. Y. B. Lim and M. Lee, *J. Mater. Chem.*, **21**, 11680 (2011).
17. B. Pairet and E. Jaenicke, *PLoS ONE*, **5**, 8 (2010).
18. Y. S. Lee, *Self-assembly and nanotechnology; a force balance approach.*, John Wiley & Sons, New Jersey, 2008.
19. D. S. Goodsell, *Bionanotechnology: lessons from nature*, Wiley-Liss, New Jersey, 2004.
20. M. R. Ghadiri, J. R. Granja, and L. K. Buehler, *Nature*, **369**, 301 (1994).
21. M. R. Ghadiri, J. R. Granja, R. A. Milligan, D. E. McRee, and N. Khazanovich, *Nature*, **366**, 324 (1993).
22. H. S. Kim, J. D. Hartgerink, and M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 4417 (1998).
23. S. Fernandez-Lopez, H. S. Kim, E. C. Choi, M. Delgado, J. R. Granja, A. Khasanov, K. Kraehenbuehl, G. Long, D. A. Weinberger, K. M. Wilcoxon, and M. R. Ghadiri, *Nature*, **412**, 452 (2001).
24. I. S. Park, Y. R. Yoon, M. Jung, K. Kim, S. Park, S. Shin, Y. B. Lim, and M. Lee, *Chem. Asian. J.*, **6**, 452 (2011).
25. E. G. Bellomo, M. D. Wyrsta, L. Pakstis, D. J. Pochan, and T. J. Deming, *Nat. Mater.*, **3**, 244 (2004).
26. E. P. Holowka, D. J. Pochan, and T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 12423 (2005).
27. E. P. Holowka, V. Z. Sun, D. T. Kamei, and T. J. Deming, *Nat. Mater.*, **6**, 52 (2007).
28. W. Jiang, B. Y. Kim, J. T. Rutka, and W. C. Chan, *Nat. Nanotechnol.*, **3**, 145 (2008).
29. S. D. Perrault, C. Walkey, T. Jennings, H. C. Fischer, and W. C. Chan, *Nano Lett.*, **9**, 1909 (2009).
30. K. Zhang, H. Fang, Z. Chen, J. S. Taylor, and K. L. Wooley, *Bioconjug. Chem.*, **19**, 1880 (2008).
31. V. Raffa, G. Ciofani, S. Nitodas, T. Karachalios, D. D'Alessandro, M. Masini, and A. Cuschieri, *Carbon*, **46**, 1600 (2008).
32. B. S. Kim, D. J. Hong, J. Bae, and M. Lee, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 16333 (2005).
33. Y. B. Lim, S. Park, E. Lee, H. Jeong, J. H. Ryu, M. S. Lee, and M. Lee, *Biomacromolecules*, **8**, 1404 (2007).
34. A. B. Tuzikov, A. A. Chinarev, A. S. Gambaryan, V. A. Oleinikov, D. V. Klinov, N. B. Matsko, V. A. Kadykov, M. A. Ermishov, I. V. Demin, V. V. Demin, P. D. Rye, and N. V. Bovin, *ChemBioChem*, **4**, 147 (2003).
35. Y. B. Lim, E. Lee, and M. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **46**, 9011 (2007).
36. Y. B. Lim, E. Lee, Y. R. Yoon, M. S. Lee, and M. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **47**, 4525 (2008).
37. D. A. Christian, S. Cai, O. B. Garbuzenko, T. Harada, A. L. Zajac, T. Minko, and D. E. Discher, *Mol. Pharm.*, **6**, 1343 (2009).
38. L. C. Palmer, C. J. Newcomb, S. R. Kaltz, E. D. Spoerke, and S. I. Stupp, *Chem. Rev.*, **108**, 4754 (2008).
39. R. M. Capito, H. S. Azevedo, Y. S. Velichko, A. Mata, and S. I. Stupp, *Science*, **319**, 1812 (2008).
40. S. M. Zhang, M. A. Greenfield, A. Mata, L. C. Palmer, R. Bitton, J. R. Mantei, C. Aparicio, M. O. de la Cruz, and S. I. Stupp, *Nat. Mater.*, **9**, 594 (2010).
41. R. P. Nagarkar, R. A. Hule, D. J. Pochan, and J. P. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 4466 (2008).
42. Y. B. Lim, K. S. Moon, and M. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **48**, 1601 (2009).
43. S. J. Choi, W. J. Jeong, T. H. Kim, and Y. B. Lim, *Soft Matter*, **7**, 1675 (2011).
44. C. L. Chen and N. L. Rosi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **49**, 1924 (2010).
45. T. S. Burkoth, T. L. S. Benzinger, D. N. M. Jones, K. Hallenga, S. C. Meredith, and D. G. Lynn, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 7655 (1998).
46. H. R. Marsden, J. W. Handgraaf, F. Nudelman, N. A. J. M. Sommerdijk, and A. Kros, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 2370 (2010).